UNIVERSITATEA DIN CRAIOVA
FACULTATEA DE CHIMIE

Lect.dr. CEZAR SPÎNU

CHIMIE BIOANORGANICĂ

Editura Universitaria Craiova
- 2003 -

Referenţi ştiinţifici:

Prof. dr. Angela Kriza
Universitatea Bucureşti
Prof. dr. Nicolae Mureşan
Universitatea Craiova
Prof. dr. Alexandru Popescu
Universitatea Craiova

CUPRINS

I. Combinaţii complexe. Generalităţi..... 5

II. Legătura chimică în combinaţiile complexe..... 10

II.1. Metoda legăturii de valenţă..... 10

II.1.1. Hibridizarea tetraedrică..... 11

II.2.2. Hibridizarea octaedrică..... 13

II.2. Teoria câmpului cristalin..... 14

II.3. Teoria orbitalilor moleculari..... 37

II.4. Constante de formare ale complecşilor..... 40

III. Metaloenzime pentru transportul şi stocarea oxigenului..... 45

III.1. Structura moleculară a dioxigenului..... 45

III.2. Procesul de autooxidare şi peroxidare..... 52

III.3. Oxigenul molecular ca bioligand în biocompuşii de coordinare..... 55

III.4. Proteine care fixează reversibil oxigenul..... 57

III.4.1. Mioglobina şi hemoglobina..... 58

III.4.2. Hemoglobina-proteină alosterică..... 80

III.4.3. Hemocianina..... 92

III.4.4. Modele pentru transportorii de oxigen..... 96

IV. Metaloenzime catalizatori ai proceselor redox..... 103

V. Metaloenzime catalizatori ai proceselor hidrolitice.. 110

VI. Complecşi sintetici ai metalelor tranziţionale..... 115

VI.1. Complecşi fixatori de azot..... 116

VI.2. Alţi chelaţi utilizaţi ca modele..... 119

VII. Nemetale care intervin în procesele biologice..... 123

VIII. Complecşi terapeutic activi..... 127

IX. Metode fizice utilizate în studiul compuşilor coordinativi ai biometalelor cu bioliganzi. 137

IX.1. Spectroscopia de absorbţie vibraţională..... 146

IX.2. Spectroscopia de absorbţie electronică..... 150

IX.3. Determinarea conductibilităţii molare..... 158

IX.4. Spectroscopia de rezonanţă magnetică nucleară. 160

IX.5. Rezonanţa paramagnetică nucleară..... 164

X. Aplicaţii ale chimiei bioanorganice..... 169

X.1. Aplicaţii în medicină..... 169

X.2. Aplicaţii în agricultură..... 171

X.3. Aplicaţii în protecţia mediului..... 171

Bibliografie generală..... 173

Prefaţă

Chimia bioanorganică este unul din cele mai noi domenii studiate în cadrul chimiei anorganice. Menirea ei este de a identifica compuşii anorganici implicaţi în diferite procese biologice, de a studia aceşti compuşi, de a modela chimic şi matematic sistemele biologice ce îi conţin şi în final de a controla şi optimiza astfel de sisteme. Chimia bioanorganică a apărut din conştientizarea faptului că organismele vii au nevoie pentru a se perpetua în mod continuu şi de alte elemente decât cele organogene. Aceste elemente sunt necesare tuturor formelor cunoscute de viaţă. Ca orice ramură a chimiei, chimia bioanorganică dezvoltă două aspecte importante: sinteza şi analiza compuşilor anorganici şi a compuşilor coordinativi ai biocationilor implicaţi în procesele vieţii. Scopul analizei în acest domeniu se referă la identificarea şi cunoaşterea rolului celor 24 de elemente chimice din sistemul periodic prezente în lumea vie, iar scopul sintezei este de a reproduce caracteristicile combinaţiilor acestora implicate în procesele vieţii, în condiţii de laborator.

Imitarea structurii şi proprietăţilor acestor compuşi, respectiv biomimetizarea lor, este încă la început, dar în laboratoarele de specialitate se obţin succese importante pentru reproducerea structurii şi proprietăţilor centrilor activi ai unor

enzime cu funcţii biologice importante cum ar fi: reproducerea structurii electronice a clusterilor fier-sulf implicaţi în procesele de fotosinteză, reproducerea structurii clusterilor fier-oxo implicaţi în procesele de activare a dioxigenului, etc. Cartea de faţă încearcă să realizeze o sistematizare a unora dintre principalele aspecte ale chimiei bioanorganice punând accent pe compuşii coordinativi implicaţi în procesele vieţii. Sunt prezentate principalele teorii care tratează formarea legăturii chimice în combinaţiile complexe, sistemele metaloenzimatice transportaoare de oxigen, fixatoare de azot, catalizatori ai proceselor hidrolitice şi redox, sisteme model, compuşi coordinativi cu activitate antitumorală şi anticanceroasă, principalele metode fizice de analiză a biocomplecşilor precum şi principalele domenii de aplicabilitate ale chimiei bioanorganice.

Cartea se adresează atât cadrelor didactice şi studenţilor de la facultăţile de chimie cât şi cercetătorilor şi specialiştilor din domenii înrudite, care abordează din alte puncte de vedere problemele vieţii cum ar fi agronomia, biologia, biofizica, medicina etc.

Autorul este conştient că din cauza complexităţii informaţiei nu au fost prezentate toate aspectele care ar putea interesa şi de aceea va fi recunoscător colegilor care vor semnala eventualele scăpări sau care vor da sugestii în eventualitatea apariţiei unei noi ediţii.

Autorul

I. COMBINAŢII COMPLEXE. GENERALITĂŢI

Combinaţiile complexe sunt specii care conţin unul sau mai mulţi ioni metalici, identici sau diferiţi, înconjuraţi de un anumit număr de ioni sau molecule care poartă denumirea de liganzi. Numărul de particule legate direct de ionul metalic central reprezintă numărul de coordinare (cifra de coordinare) care are o importanţă deosebită în întrega stereochimie anorganică.

Liganzii, anioni sau molecule, determină o serie de proprietăţi ale combinaţiilor complexe cum ar fi: stereochimie, proprietăţi optice şi magnetice, reactivitate, stabilitate, etc. . Prima condiţie pe care trebuie să o îndeplinească o particulă pentru a funcţiona ca ligand este ca aceasta să conţină cel puţin un atom cu o pereche de e⁻ neparticipanţi prin care să se lege direct de ionul metalic. Rolul de atomi donori poate fi îndeplinit de elemente din grupele IV A – VII A. În sistemele biologice cel mai des întâlniţi sunt liganzii care conţin ca atom donor N, O şi S.

Exemple de liganzi:

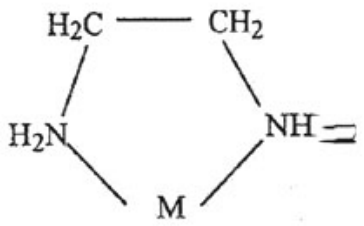
NH_3, H_2O, R – OH, en ($H_2N – CH_2 - CH_2 – NH_2$), CN^-, X^-, CO_3^{2-}, SCN^-.

În funcţie de numărul de atomi donori liganzii pot fi:

- monodentaţi: NH_3, H_2O, HO^-

- polidentaţi: en, 2,2' - d[illegible]iridil

Liganzii care prin coordinare la ionul metalic formează un heterociclu se numesc liganzi chelaţi, iar [illegible]ecile rezultate se numesc chelaţi:



Prin chelare se formează cicluri stabile[illegible]e 5 sau 6 atomi.

De asemenea, o serie de compuşi nat[illegible]rali cu rol extrem de important în procesele biochimice (clorofile, [illegible]moglobina, vitamina B_{12}) sunt combinaţii complexe cu liganzi mac[illegible]ciclici.

Geometrii şi numere de co[illegible]rdinare

Prima teorie asupra formării combina[illegible]ilor complexe a fost ***teoria coordinaţiei a lui Werner***. Portula[illegible]e fundamentale ale acestei teorii, pe baza cărora s-a explicat atâ[illegible]formarea cât şi unele proprietăţi fundamentale ale combinaţiilor co[illegible]plexe, se referă la:

- valenţa principală şi secundară a e[illegible]mentelor;
- legături de valenţă dirijate.

Prin valenţă principală, Werner înţ[illegible]ege acea manifestare a afinităţii chimice a elementelor care [illegible]onduce la formarea combinaţiilor simple (aşa numitele combina[illegible]i de ordinul I), deci

noţiunea de valenţă prinicpală coincide cu noţiunea obişnuită de valenţă.

Prin valenţă secundară înţelege acea manifestare a afinităţii chimice care conduce la formarea combinaţiilor de ordin superior, adică la unirea unor molecule cu existenţă de sine stătătoare. Astfel, pentru unele combinaţii care iniţial au fost formulate $CaCl_2 \cdot 6NH_3$, $Fe(CN)_2 \cdot 4KCN$, teoria lui Werner introduce formulările $[\ Ca(NH_3)_6\ ]Cl_2$ şi $K_4[\ Fe(CN)_6]$. Prin terminologie modernă, valenţa principală corespunde stării de oxidare a ionului metalic central iar valenţa secundară corespunde numărului de coordinare.

Cel de-al doilea pas important făcut de Werner a constat în ideea că valenţele secundare sunt dirijate în spaţiu, punând astfel bazele stereochimiei anorganice. Astfel, s-au introdus modele spaţiale ce au fost ulterior confirmate prin metode fizice; totodată, s-a reuşit explicarea fenomenului de izomerie observat la unele combinaţii complexe.

Prin concluzie, o combinaţie complexă este formată din:

- ion metalic central
- liganzi, în prima sferă de coordinare
- anioni sau cationi în a doua sferă de coordinare

Numerele de coordinare cel mai des întâlnite în combinaţiile complexe sunt: 2, 4, 5 şi 6.

Geometriile corespunzătoare acestor numere de coordinare sunt: liniară, tetraedrică, plan-pătrată, bipiramidă trigonală, piramidă pătratică, octaedrică.

Pentru orientare generală, în chimia anorganică este bine de reținut frecvența numerelor de coordinare întâlnite la câțiva ioni ai metalelor tranziționlale din seria *3d*:

Cr(III) 6(Oh) >>5, altele foarte rar

Fe(III) 6(Oh) >5>4(Td)

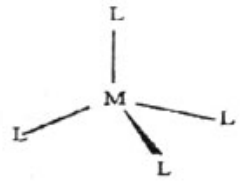
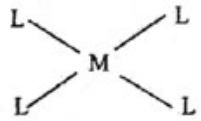
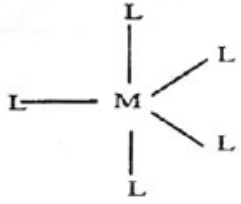
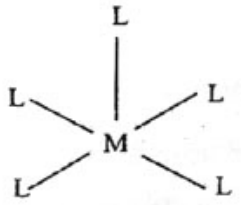
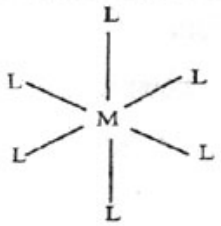
Co(III) 6(Oh) >>>5, altele necunoscute

Co(II) 6(Oh) > 4(Td) > 5 > 4 (plan – pătrat)

Ni(II) 6(Oh) > 4 (plan – pătrat) > 4 (Td) ≅ 5

Cu(II) 6(Oh) ≅ 5≅ 4 (plan – pătrat) ≅ 4 (Td)

Stabilirea stereochimiei unei combinații complexe se face pe baza configurației electronice a ionului metalic central şi a numărului de coordinare a acestuia, pe baza naturii câmpului lignzilor şi a devierilor care apar de la simetrie teoretică.

N.C.	*Geometria*	*Exemple*
2	L — M — L	$[Cu(NH_3)_2]^+$
4		$[FeCl_4]^{2-}$
		$[PtCl_4]^{2-}$
5		$[CuCl_5]^{3-}$
		$[Cu(NH_3)_4(H_2O)]$
6		$[PtCl_6]^{2-}$

II. LEGĂTURA CHIMICĂ ÎN COMBINAȚIILE COMPLEXE

Tratarea teoretică a legăturii chimice în combinațiile complexe poate fi realizată prin 4 metode:

- metoda (teoria) legăturii de valență (M. L. V.) – Pauling;
- metoda (teoria) câmpului cristalin (T. C. C.) – Van Vleck;
- metoda (teoria) câmpului de liganzi (T. C. L.) – Van Vleck;
- metoda (teoria) orbitalilor moleculari (M. O. M.) – Mulliken.

II.1. Metoda legăturii de valență (M. L. V.)

Metoda legăturii de valență, elaborată de Pauling, a reușit să explice două proprietăți importante ale combinațiilor complexe: stereochimia și comportarea magnetică.

Ideile principale ale acestei teorii sunt:

a) ionul metalic central utilizează pentru formarea legăturilor covalente cu liganzii un număr de orbitali egal cu numărul său de coordinare în combinația complexă respectivă;

b) legătura signa (σ) metal – ligand se realizează prin acoperirea unui orbital al ligandului (ocupat cu 2 electroni) cu un orbital hibrid al ionului metalic central.

Pe această teorie, explicarea stereochimiei combinațiilor complexe pornește de la ideea că orbitalii hibrizi utilizați de ionul metalic central sunt dirijați în spațiu; de asemenea, natura orbitalilor atomici implicați în procesul de hibridizare se stabilește prin teoria grupurilor.

II.1.1. Hibridizarea tetraedrică

Se notează cu Γ_{Td} reprezentarea grupului de simetrie tetraedric pentru care cei 4 orbitali hibrizi constituie o bază. Supunând orbitalii hibrizi operațiilor de simetrie ale grupului tetraedric se obține:

$$\Gamma_{Td} = A_1 + T_2$$

în care :

- reprezentarea simetrică A_1 are ca bază orbitalul *s;*
- reprezentarea T_2 poate avea ca bază orbitali p_x, p_y, p_z sau d_{xy}, d_{xz}, d_{yz}.

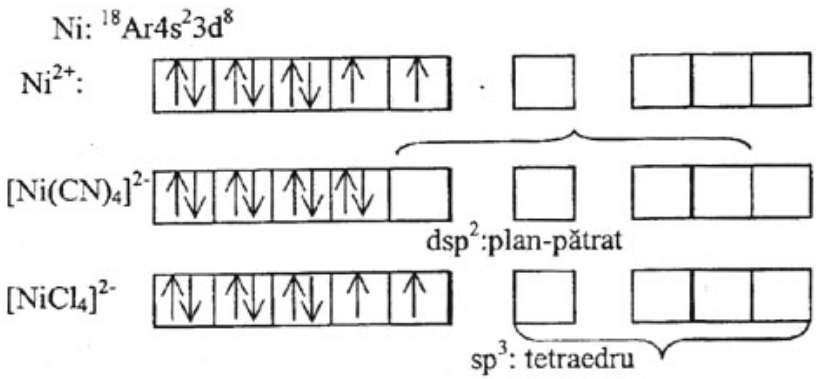
De aici rezultă două posibilități de hibridizare pentru geometria tetraedrică și anume: sp^3 sau sd^3 .

Pentru a explica unele particularități ale combinațiilor complexe (stabilitate, structură, etc.), Pauling presupune că ionii metalelor tranziționale, pot forma cu liganzii, pe lângă legături

simple, şi legături multiple (π). Acestea pot fi legături π L→M şi legături π M→L.

Formarea unei astfel de legături π conduce la întărirea legăturii metal – ligand şi contribuie la micşorarea sarcinii negative acumulate pe ionul metalic central în urma coordinării liganzilor.

Un alt aspect abordat de M. L. V. este comportarea magnetică a compuşilor coordinativi. De exemplu, compuşii tetracoordinați ai Ni(II) pot fi diamagnetici sau paramagnetici.



Pauling a presupus că în complecşii care conțin liganzi puternic donori de electroni (NH_3, H_2O, CN^-) legătura M-L are un puternic caracter covalent. În astfel de combinații are loc o rearanjare a electronilor *d* prin cuplare, se micşorează numărul electronilor necuplați şi scade spinul total al sistemului.

Spre deosebire de acest caz, în combinațiile conținând liganzi mai slab donori de electroni sau puternic electronegativi (F^-,

Cl^-), legătura M-L se realizează prin interacțiuni electrostatice fără a mai fi perturbați electronii *d* ai ionului metalic central.

II.1.2. Hibridizarea octaedrică

Supunând orbitalii hibrizi operațiilor de simetrie ale grupului octaedric se obțin următoarele reprezentări inductibile:

$$\Gamma = A_{1g} + T_{1u} + E_g$$

unde:

A_{1g} are ca bază orbitalul *s*;

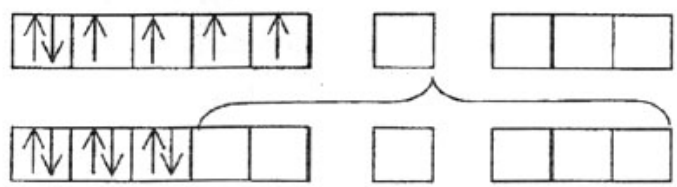
T_{1u} are ca bază orbitalii p_x, p_z, şi p_z;

E_g are ca bază d_{x2-y2} şi d_{z2}.

În cazul coordinării octaedrice, prin combinarea celor 6 orbitali hibrizi ai ionului metalic cu 6 orbitali ai liganzilor se formează 6 legături de tip donor – acceptor (ligandul este donorul iar ionul metalic este acceptorul).

Exemplu : $[Fe (NH_3)_6]^{2+}$

Fe : $^{18}Ar\ 4s^2\ 3d^6$



d^2sp^3 - octaedru

Cu toate că a constituit un pas înainte, M. L. V. are posibilități limitate:

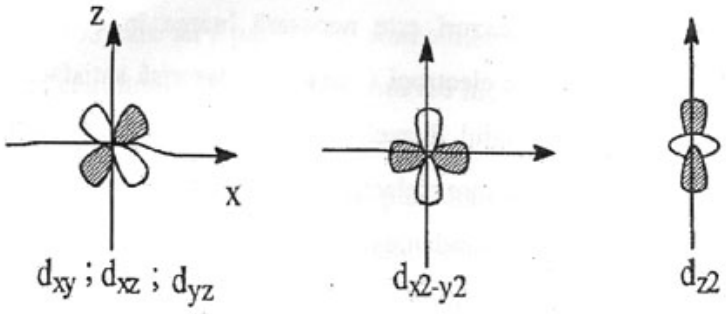
- nu a reușit să explice spectrele de absorbție ale combinațiilor complexe;

- în unele situații rezultatele teoretice referitoare la stereochimie și proprietăți magnetice nu concordă cu cele experimentale.

II.2. Teoria câmpului cristalin (T.C.C.)

Pasul important pe care îl face teoria câmpului cristalin (T. C. C.) față de modelul electrostatic simplu, constă în considerarea efectului liganzilor (care sunt asimilați cu sarcini sau dipoli punctiformi) asupra orbitalilor ionului metalic central.

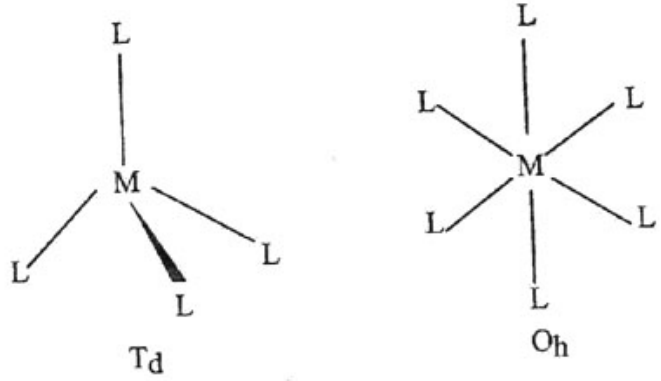
Pentru a înțelege interacțiunea M – L în cadrul acestei teorii, este necesară cunoașterea aranjamentului spațial al celor 5 orbitali *d*:



În prezența unui câmp de simetrie sferică al unor sarcini negativi în jurul ionului metalic, energia orbitalilor *d* suferă

modificări ca urmare a interacției între electronii d și câmpul creat de sarcinile negative.

Considerăm cazul geometriilor Oh și Td:



În cazul cîmpului Oh interacțiunea cu liganzii va fi mai puternică pe direcția axelor de coordonate ==> orbitali d_{x2-y2} și d_{z2} (care au lobii orientați pe axele de coordonate) vor fi afectați mai mult decât orbitalii d_{xy}, d_{xz} și d_{yz} (care au lobii pe bisectoarele unghiurilor formate de axele de coordonate).

Deci orbitalii *d* (degenerați energetic) într-un câmp de simetrie Oh se vor scinda în 2 seturi:

- un set format din d_{x2-y2} și d_{z2} cu energie mai mare (e_g);

- un set format din d_{xy}, d_{xz} și d_{yz} cu energie mai mică (t_{2g}).

În cazul câmpului de simetrie Td orbitalii *d* se vor scinda tot în aceste două seturi, cu deosebirea că setul format din d_{xy}, d_{xz} și d_{yz} va avea energie mai mare (în simetria Td liganzii sunt situați pe

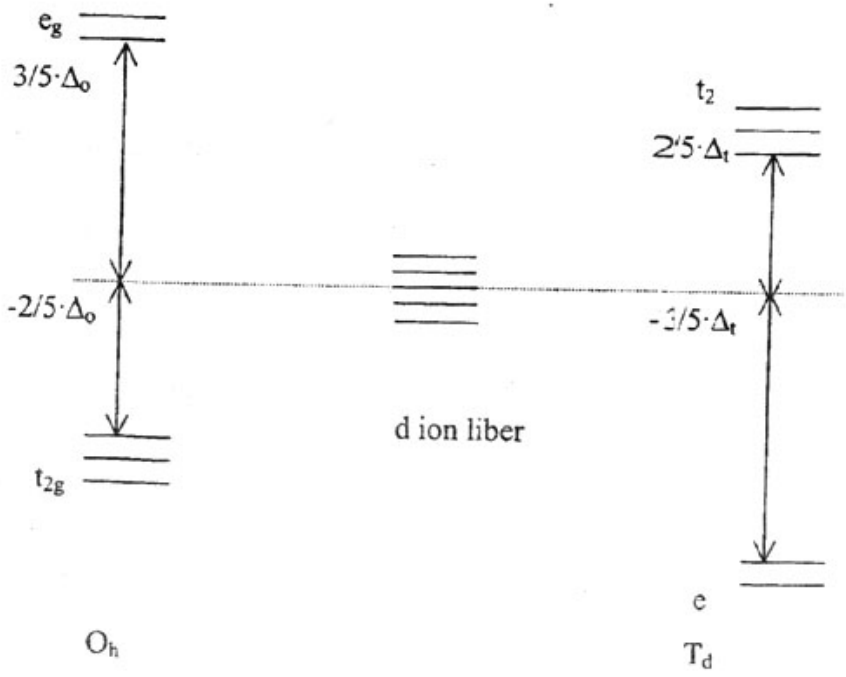
bisectoarele unghiurilor formate de axele de coordonate și deci interacționează mai puternic cu orbitalii situați pe aceste direcții).

Tratând formal, cu ajutorul teoriei grupurilor, scindarea orbitalilor *d* în câmpuri de simetrie Oh și Td se ajunge la următoarele reprezentări ireductibile:

$$\Gamma_{Oh} = t_{2g} + e_g$$

$$\Gamma_{Td} = e + t_2$$

Diagramele energetice de scindare a orbitalilor *d* în cele 2 câmpuri de simetrie sunt:



Se remarcă faptul că scindarea orbitalilor *d* s-a făcut cu repetarea "*regulii centrului de greutate al energiilor*" (de exemplu pentru simetria Oh, creșterea energiei electronilor din orbitalele t_{2g} este egală cu descreșterea energiei electronilor din orbitalelor e_g).

Dacă Δ_o și Δ_t = parametrii de scindare în câmp Oh și respectiv Td:

$$\Delta_O = E_{(eg)} - E_{(t2g)} = 10D_q$$

$$\Delta_T = E_{(t2)} - E_{(eg)} = 10D_q$$

Se introduce noțiunea de " energie de stabilizare în câmp cristalin- ESCE" ca fiind diferența dintre energie celui mai coborât nivel și cea corespunzătoare centrului de greutate al energiilor.

În chimia combinațiilor complexe, cele mai frecvente situații sunt cele în care apar mai mulți electroni *d*.

În aceste cazuri este necesară luarea în considerare și a interacțiunii dintre electroni (care este descrisă satisfăcător pentru metale 3*d* de cuplajul Russel – Saunders și este caracterizată prin energia de împerechere a electronilor P).

Termenii fundamentali pentru cele mai frecvente configurații *d* sunt:

Tabel 1. Scindarea termenilor fundamentalĕ în câmp octaedric şi tetraedric

Termen	*Scindare în câmp Oh*	*Scindare în câmp Td*
S	A_{1g}	A_1
P	T_{1g}	T_1
D	$E_g + T_{2g}$	$E + T_2$
F	$A_{2g} + T_{1g} + T_{2g}$	$A_2 + T_1 + T_2$
G	$A_{1g} + E_g + T_{1g} + T_{2g}$	$A_1 + E + T_1 + T_2$

Scindarea acestor termeni în câmpuri de diferite simetrii dă rezultate similare cu cele obținute pentru electronii individuali plasați în aceste câmpuri:

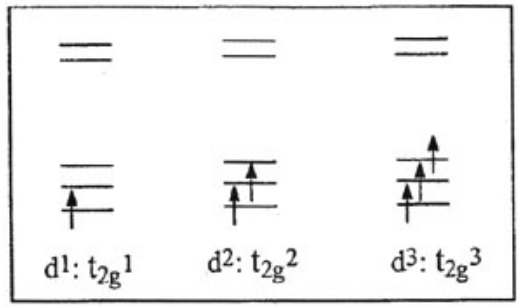
$$^nD \quad {}^nE_g + {}^nT_{2g}$$

$$^nF \quad {}^nT_{1g} + {}^nT_{2g} + {}^nA_{2g}$$

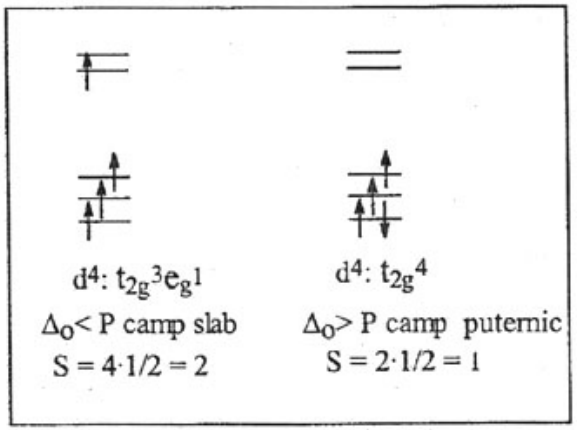
Indicele *g* are semnificație doar în cazul câmpurilor care au centru de simetrie (cum este câmpul Oh). El indică faptul că toate orbitalele care au *l* par (*s, d*) sunt simetrice față de inversiune. În cazul câmpului Td acest indice nu are nici o semnificație pentru că nu există centru de simetrie.

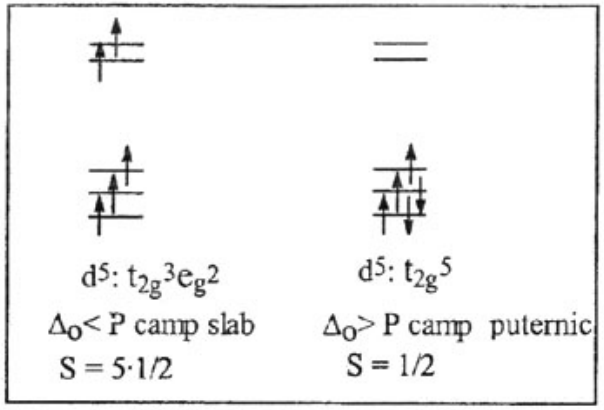
În funcție de valorile parametrului de scindare şi a energiei de împerechere a electronilor (P) există 2 posibilități de aranjare a electronilor în cazul câmpului Oh:

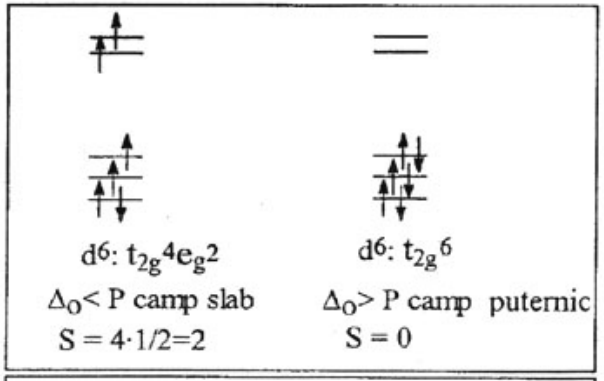
-pentru configurațiile d^1, d^2 şi d^3 indiferent de relația dintre Δ_o şi P ($\Delta_o > P$ sau $\Delta_o < P$) există doar o singură posibilitate de aranjare a electronilor:

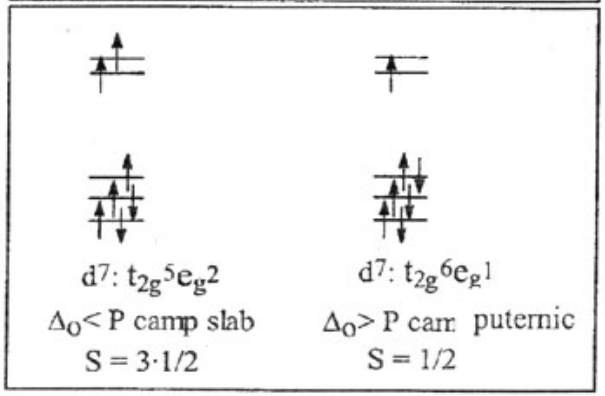


- pentru configurațiile electronice d^4 – d^7 există două posibilități de arananjare a electronilor: dacă $\Delta_o < P$ (câmp slab) electronii se vor aranja conform regulii lui Hund rezultând o configurație ***spin maxim***, iar dacă $\Delta_o > P$ (câmp puternic) electronii vor ocupa mai întâi setul t_{2g} şi apoi setul e_g rezultând o configurație ***spin minim***:

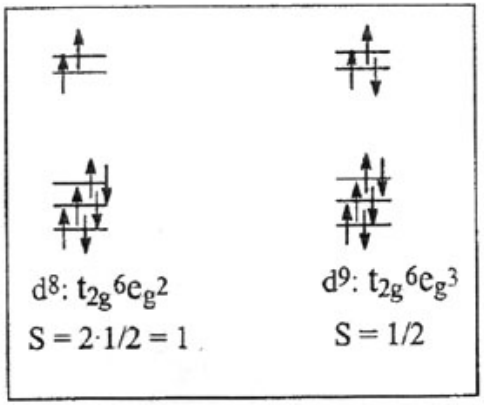








-în cazul configurațiilor d^8 și d^9 nu există decât o singură posibilitate de aranjare a electronilor:



În cazul câmpului cristalin de simetrie T_d parametrul de scindare Δ_t este mai mic decât cel al câmpului Oh ($\Delta_t \quad \frac{4}{g} \Delta_o$).

De aceea, $\Delta_t < P$ tot timpul și nu există decât varianta câmp slab - spin maxim. Pentru simetrii mari ca Oh și Td, T.C.C. prevede o ridicare suplimentară a degenerării orbitalelor.

T. C. C. a permis abordarea unui număr mare de proprietăți ale combinațiilor complexe: stereochimie, spectre electronice și proprietăți magnetice.

Neconcordanța dintre valorile experimentale și cele calculate ale parametrului de scindare provine din premisa inițială a unei interacții pur electrostatice între ionul metalic central și liganzi.

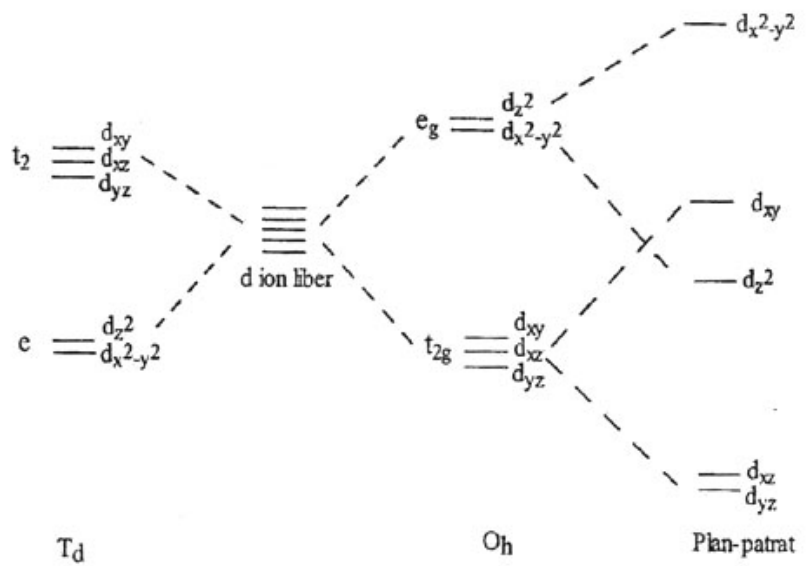


Figura 1. Scindarea orbitalilor în diferite câmpuri

Interpretarea spectrelor electronice

Pentru interpretarea spectrelor eletronice trebuie cunoscut atât termenul fundamental cât și termenii excitați ai fiecărei configurații d^n în simetrie *Oh* sau *Td*.

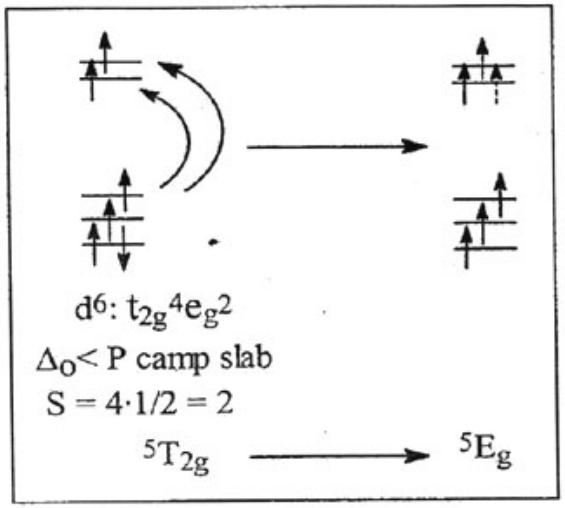
Este de remarcat faptul că acești termeni repetă relațiile :

$$d^n \quad d^{n+5}$$

$$d^n{}_{Td} \quad d^{10-n}{}_{Oh\ (spin\ max.)}$$

Vom exemplifica pentru configurațiile cele mai întâlnite : $d^6 \rightarrow d^9$.

d^6 (Oh – spin maxim)

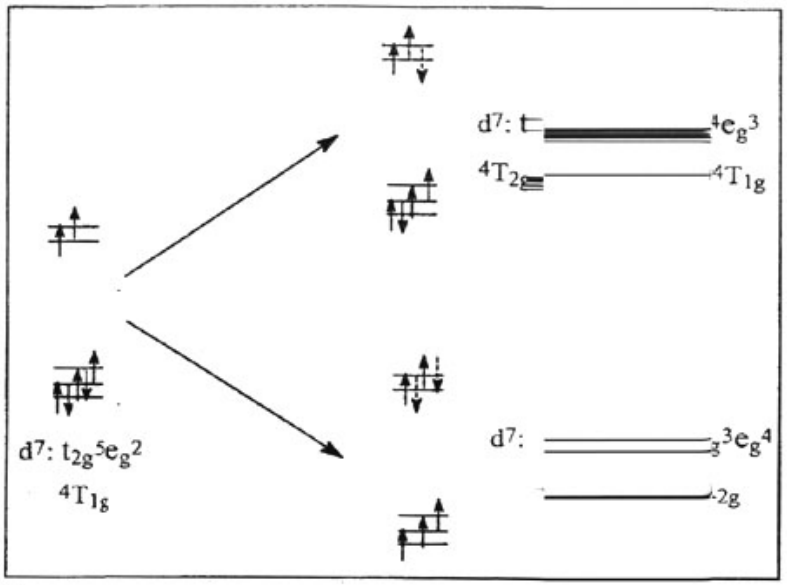


În cazul configurației d^6 se observă că există o singură stare excitată cu aceeași multiplicitate de spin.

Posibilitatea de aranjare a electronului excitat în oricare dintre cei doi orbitali ai setului e_g determină ca termenul stării excitate să fie de tip dublet E (există două posibilități de aranjare a celor 3 electroni din e_g pentru o singură posibilitate de aranjare a celor 3 electroni din t_{2g}).

Deci în spectrul electronic va apărea o singură bandă de absorbție atribuită tranziției: $^5T_{2g} \rightarrow {}^5E_g$

d^7 (Oh - spin maxim)



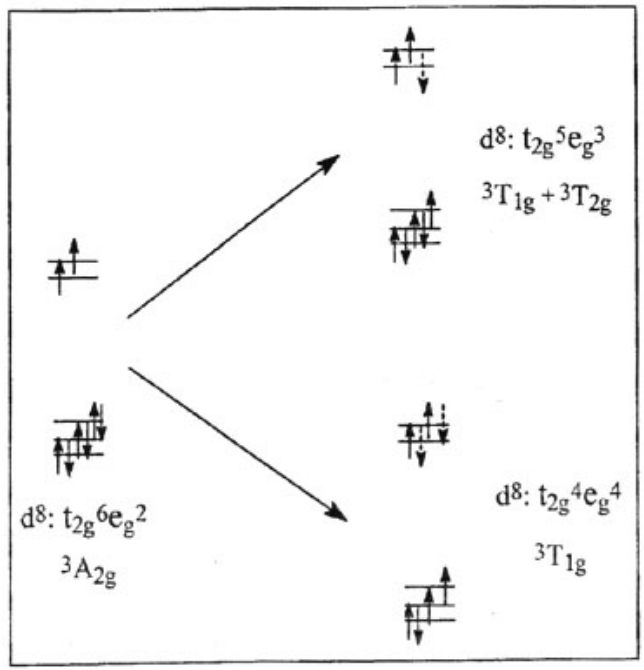
În acest caz există două stări excitat cu aceeași multiplicitate de spin. Dacă este promovat un singur ctron rezultă o stare excitată degenerată orbital de șase ori (pentru care din cele două posibilități de aranjare a electronilor din există trei posibilități de aranjare a electronilor din t_{2g}) caract zată prin doi termeni de tip triplet T.

Dacă sunt promovați doi electroni rezultă tare excitată caracterizată prin termen singlet (o singură posibilit e de aranjare atât a electronilor din e_g cât și a celor din t_{2g}).

Pentru combinațiile complexe ale ionilor d^7 spin maxim (Co^{2+}) se așteaptă ca în spectrul electronic să apară trei benzi de absorbție corespunzătoare tranzițiilor:

$$^4T_{1g} \rightarrow {}^4T_{2g}$$
$$^4T_{1g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P)$$
$$^4T_{1g} \rightarrow {}^4A_{2g}$$

d^8 (Oh – spin maxim)



Se observă că pentru ionii cu configurație d^8 spin maxim (Ni^{2+}) aflați într-un câmp al liganzilor de simetrie octaedrică

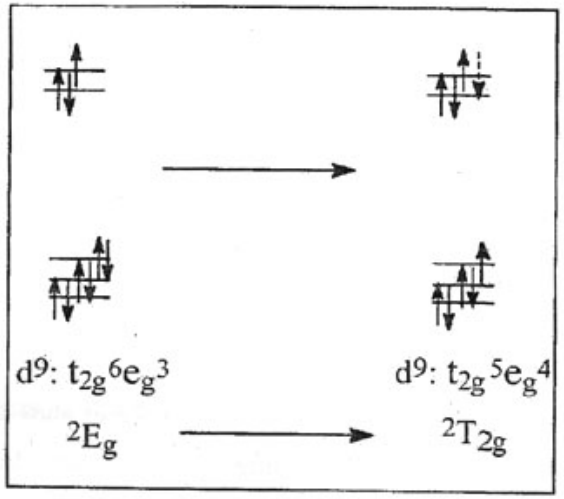
spectrul electronic ar trebui să conțină trei benzi de absorbție caracteristice celor trei tranziții permise de spin:

$$^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{1g}$$

$$^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{2g}$$

$$^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{1g}(P)$$

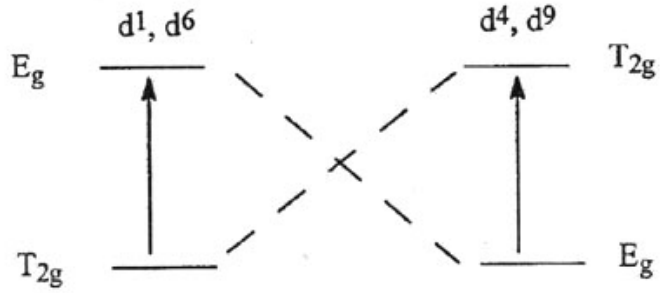
d^9 (Oh – spin maxim)



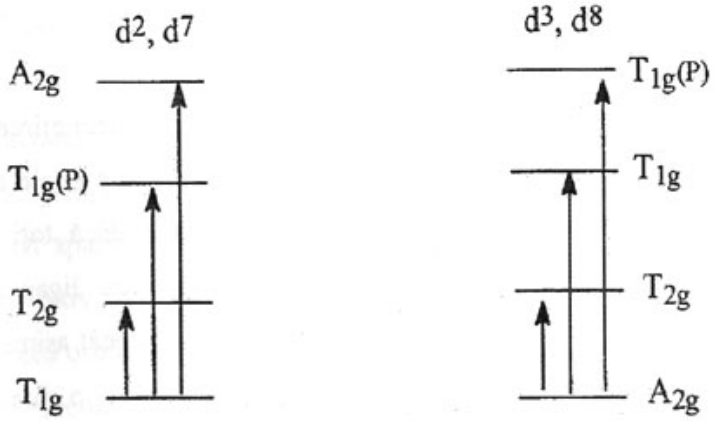
În cazul ionilor cu configurație d^9 (Cu^{2+}) în spectrul electronic este de așteptat apariție unei singure benzi de absorbție caracteristică tranziției $^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$.

Deci, în funcție de tipul configurației d^n, pot exista 2 stări excitate (3 termeni) sau o singură stare excitată. Ținând cont de faptul că configurația d^n și d^{n+5} sunt identice și configurația $d^n{}_{Td}$ identică cu $d^{10-n}{}_{Oh\ (spin\ max.)}$ se pot face următoarele diagrame:

a) configurații pentru care există o singură stare excitată cu un termen spectral:



b) configurații pentru care există 2 stări excitate cu 3 termeni spectrali:



Astfel ar trebui ca spectrele ca în spectrele electronice ale combinații complexe ale ionilor d^1, d^9, d^6 și d^4 să apară o singură bandă de absorbție iar spectrele combinațiilor complexe ale ionilor d^2, d^8, d^3 și d^7 să apară 3 benzi de absorbție. În unele cazuri însă benzile au un aspect asimetric sau chiar sunt scindate în mai multe componente. De asemenea, în cazul ionilor d^2 și d^3 nu se observă

decât 2 benzi de absorbție. Acestea se datorează asimetriei care poate apărea din cauza a doi factori:

- cuplarea spin – orbită
- efectul Jahn – Teller

Devieri de la simetria perfectă efectul Jahn- Teller

Devieri de la simetria prevăzută pentru o combinație complexă de un anumit N. C. pot să apară ca urmare a diversității liganzilor coordinați în jurul ionului metalic central, datorită efectului vecinătății chimice asupra dispoziției liganzilor în cristal, sau datorită orientării câmpului ionului central.

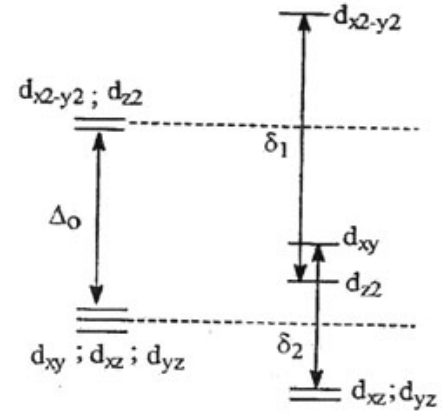
Acest ultim fenomen cunoscut sub denumirea de asimetrie internă sau efect Jahn – Teller, explică de ce unele combinații nu prezintă simetrie maximă posibilă, chiar dacă toți liganzii sunt identici (pentru combinațiile complexe cu liganzi identici, în soluție, distorsionarea nu poate fi atribuită decât asimetriei interne). Fenomenul de asimetrie internă își găsește o fundamentare în teorema propusă de Jahn și Teller referitoare la molecule ale căror stări fundamentale sunt degenerate orbiatal: " *un sistem poliatomic neliniar, într-o stare electronică degenerată orbital, este nestabil. Un astfel de sistem va suferi o distorsiune, care conduce la o configurație de simetrie mai scăzută de energie mai mică, cu alte cuvinte prezintă o instabilitate configurațională Jahn – Teller*".

Combinațiile complexe hexacoordinate în care ionul metalic central are una din configurațiile d^0, d^5, d'^0 adică nivelul *d* exterior jumătate sau complet ocupat, nu manifestă nici o tendință de distorsiune (aceasta se explică prin faptul că datorită simetriei sferice a nivelelor electronice considerate, un ligand va suferi aceeași interacție electrostatică indiferent de poziția lui).

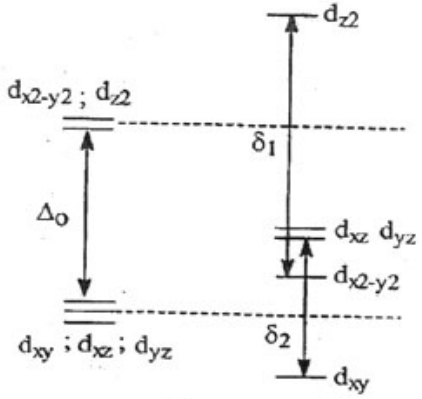
Considerăm că cei doi liganzi situați pe axa z se îndepărtează de ionul metalic central. Ei vor interacționa mai slab cu ionul metalic central comparativ cu ceilalți patru liganzi. În consecință, orbitalii *d* ai ionului metalic central ce au o componentă pe axa z (d_{xz}, d_{yz}, d_{z2}) se vor stabiliza din punct de vedere energetic interacția lor cu liganzii de pa axa z fiind mai slabă. Ca urmare, energia lor va scădea și în compensație energia orbitalilor d_{xy} și d_{x2-y2} va crește.

Datorită faptului că d_{z2} și d_{x2-y2} sunt orientați direct către liganzi, scindarea suplimentară rezultată în urma distorsiunii tetragonale a grupului de orbitale e_g, notată cu δ_1, va fi comparativ mai mare decât scindarea suplimentară a grupului de orbitale t_{2g}, notată cu δ_2, deoarece cei trei orbitali din acest grup nu sunt orientați pe direcția liganzilor:

$$10Dq >> \delta_1 > \delta_2$$



Ionul metalic central acționează ca și cum este mai puternic electropozitiv pe axele x și y comparativ cu axa z (anizotropia electronegativității). În cazul în care distorsiunea are loc invers (micșorarea distanței între ionul metalic central și liganzi pe axa z) acesta este mai electropozitiv pe direcția z și toți orbitalii *d* ai ionului metalic ce au componentă pe această direcție (d_{xz}, d_{yz} și d_{z2}) se destabilizează din punct de vedere energetic în timp ce orbitalii d_{xy} și d_{x2-y2} se vor destabiliza.



Din punct de vedere electronic, distorsiunea tetragonală apare la configurațiile electronice în care orbitalii t_{2g} și e_g (în simetrie octaedrică) și respectiv t_2 și e (în simetrie tetraedrică) sunt ocupați în mod neechivalent cu electroni. De exemplu, dacă în grupul de orbitalc e_g orbitalul d_{x2-y2} este ocupat cu doi electroni (d_{x2-y2})^2(d_{z2})^1 se constată ca pe direcția xy interacțiile ionului metalic cu liganzii sunt mai slabe deoarece acestea sunt ecranate. În orbitalul d_{z2}, fiind doar un singur electron, ecranarea este mai slabă, deci este de așteptat ca octaedrul să fie distorsionat în forma cu două legături scurte și patru legături lungi (octaedru comprimat; 2S + 4L; **z – in**).

Dacă degenerarea orbitalilor este determinată de ocuparea neechivalentă a setului t_{2g} , $(d_{xy})^1(d_{xz})^0(d_{yz})^0$, interacția metal – ligand este ecranată mai mult pe direcțiile x și y, deci este de așteptat apariția distorsiunii tetragonale de tipul 2S + 4L (**z- out**). Comparativ cu primul caz disorsiunea va fi mai puțin semnificativă deoarece orbitalii t_{2g} nu sunt orientați către liganzi.

Deoarece combinațiile complexe de Cu(II) sunt cele mai studiate din acest punct de vedere, în continuare se va considera, în primul rând, cazul configurației d^9. După cum se știe, într-un câmp de simetrie octaedrică realizat, de exemplu, într-o combinație complexă de tipul $[CuA_6^{2+}]$ termenul fundamental ^2S al ionului Cu^{2+} se scindează în doi termeni, și anume $^2T_{2g}$ și ^2E_g, fundamental fiind termenul ^2E_g.

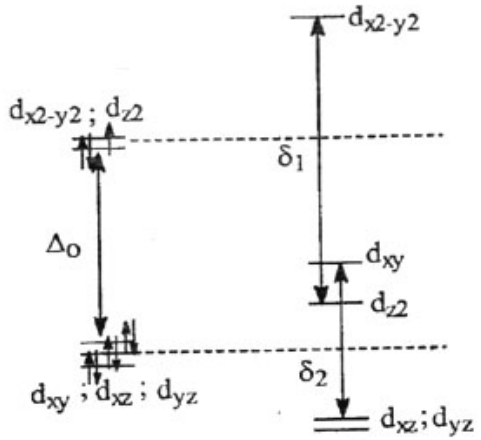
Configurația $(t_{2g})^6(eg)^3$ a ionului Cu^{2+} într-un astfel de câmp corespunde unei stări fundamentale dublu degenerate. Această degenerare rezultă din faptul că sunt posibile două atribuiri ale celor trei electroni e_g și anume: $(d_{z2})^2(d_{x2-y2})^1$ și respectiv $(d_{z2})^1(d_{x2-y2})^2$.

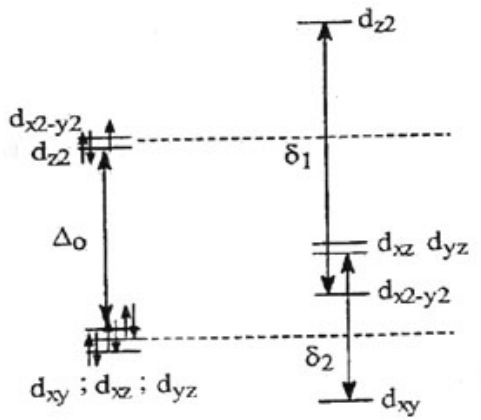
În cazul în care golul din nivelul e_g se găsește în orbitala d_{z2} cei doi liganzi situați de-a lungul axei Oz sunt mai puternic atrași de ionul metalic central, decât cei situați în planul *xy*. Consecința acestei atracții nesimetrice este o distanță internucleară de echilibru mai mică de-a lungul axei *z* și 4 legături mai lungi cu liganzii din planul *xy*. Acest lucru este echivalent cu a spune că într-un astfel de sistem, sarcina nucleară a ionului central este mult mai bine protejată pe direcțiile *x* și *y* decât de-a lungul axei *z* ⇒ geometrie de *Oh* comprimat.

Dacă golul se găsește în orbitala d_{x2-y2} situația este inversă, adică se realizează un octaedru cu 4 legături mai scurte (în planul *xy*) și două legături mai lungi de-a lungul axei *z* ⇒ octaedru alungit → plan – pătrat.

Configurațiile pentru care se pot prevedea distorsiuni de la structura octaedrică regulată:

- spin maxim: $d^1 \rightarrow (t_{2g})^1$; $d^2 \rightarrow (t_{2g})^2$; $d^6 \rightarrow (t_{2g})^4(e_g)^2$; $d^7 \rightarrow (t_{2g})^5(e_g)^2$
- spin minim: $d^4 \rightarrow (t_{2g})^4$ și $d^5 \rightarrow (t_{2g})^5$





Efectul Jahn – Teller la combinații complexe cu cicluri chelate

La combinațiile complexe care conțin liganzi polidentați apare o contradicție între stabilizarea unor legături duble metal – ligand și distorsarea acestor distanțe ca urmare a tendinței ionului metalic de a stabiliza o structură distorsionată tetragonal. În acest

caz, efectul Jahn – Teller se manifestă în două moduri: prin instabilitate termodinamică, în cazul în care există chelare (legături identice ca lungime) și neechivalența distanțelor atunci când asimetria ionului metalic predomină față de efectul de chelatare.

Felul în care etilendiamina (en) afectează stabilitatea combinațiilor complexe poate fi ilustrat prin secvența reacțiilor de substituție, în trepte, a celor șase molecule de apă din speciile $[M(H_2O)_6]^{2+}$ cu una, două și respectiv trei molecule de *en*, reacții în care constantele de stabilitate K_1, K_2, K_3 sunt un indiciu asupra speciilor rezultate. Au fost studiate metalele din prima serie de tranzitionale ce constituie cunoscuta serie Irwing-Williams :

$$Mn^2 < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+}$$

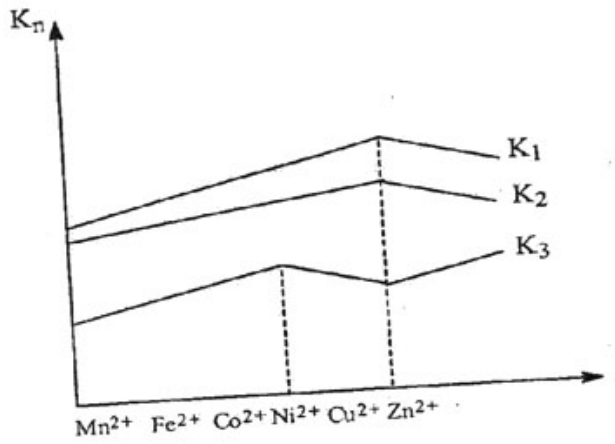
Această serie dă ordinea stabilității combinațiilor complexe pentru orice ligand.

Din grafic se observă că:

- variația primelor două constante de stabilitate respectă ordinea stabilității din seria Irwing – Williams;

- pentru K_3 valoarea maximă este la Ni^{2+} și minimă la Cu^{2+};

- această variație se respectă și în cazul combinațiilor complexe cu alți liganzi bidentați ca oxalat $(C_2O_4)^{2-}$ sau glicocol $(NH_2CH_2COO)^-$.



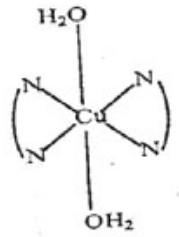
$$[M(H_2O)_6]^{2+} + en \xrightarrow[-2H_2O]{} [M(H_2O)_4en]^{2+} \qquad K_1$$

$$[M(H_2O)_4]^{2+} + en \xrightarrow[-2H_2O]{} [M(H_2O)_2(en)_2]^{2+} \qquad K_2$$

$$[M(H_2O)_2]^{2+} + en \xrightarrow[-2H_2O]{} [M(en)_3]^{2+} \qquad K_3$$

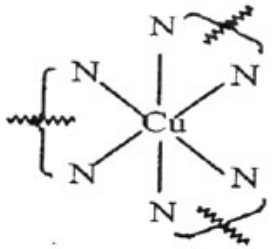
Figura 2. Ordinea stabilității complecșilor

În cazul cuprului specia care rezultă în a doua etapă este puternic distorsionată tetragonal: specia $[Cu(H_2O)_2en_2]^{2+}$ conține moleculele de apă la distanță mai mare de ionul metalic decât cei patru atomi de azot (2L + 4S).



D4h - 2L+4S

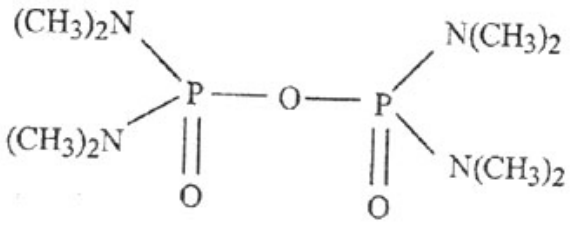
În ultima etapă rezultă $[Cu\ en_3]^{2+}$ specie hexacoordinată cu liganzi identici.



Datorită tendinței de distorsiune a Cu^{2+} prin exercitarea câmpului său electric două din cele trei cicluri chelate formate sunt tensionate. Deci se realizează o stereochimie tetraedrică dar specia este instabilă (se descompune în mediul apos).

Efectul Jahn – Teller dinamic-static

Pentru unele combinații complexe ale Cu(II) și Mn(II) pentru care se aștepta apariția unui efect Jahn – Teller clar datele experimentale indică la temperatura camerei o stereochimie octaedrică regulată ($[Cu\ en_3]^{2+}$, $[Mn\ en_3]^{2+}$, $[Cu\ (OMPA)_3]^{2+}$ - OMPA = octometilpirofosforamida)



Cercetătorii au apelat la următoarea explicație: efectul Jahn – Teller indică apariția unei distorsiuni, dar nu neapărat a unei distorsiuni mari.

Studiile de raze X asupra combinațiilor complexe răcite la 165K a arătat o rețea cristalină mai puțin simetrică decât cea determinată la temperatura camerei, oferind posibilitatea următoarei explicații: o rețea cu un grad de simetrie mai redus e asociată cu o structură moleculară mai puțin simetrică, eventual tetraedrică. Spectrele RES înregistrată la 90°C sunt caracteristice unei simetrii tetragonale a Cu(II). Aceste date au permis formularea unui efect Jahn – Teller dinamic-static:

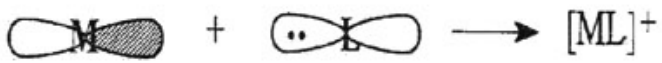
"La temperatura camerei are loc distorsarea tetragonală pe o direcție, la un moment dat, urmată de distorsarea pe o altă direcție astfel încât structura observată (mediată în timp) este nedistorsionată".

Odată cu scăderea temperaturii acest efect "îngheață" astfel încât poate fi surprinsă structura distorsionată tetragonal.

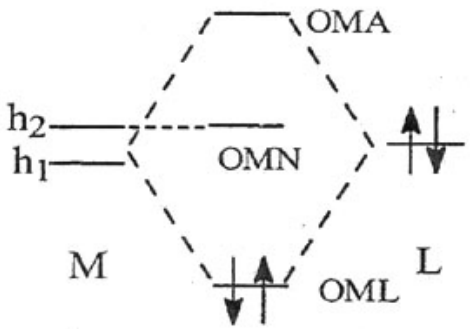
II. 3. Teoria orbitalilor moleculari (T. O. M.)

Neconcordanța între valorile teoretice și experimentale ale parametrului de scindare Δ, precum și alte efecte experimentale au sugerat necesitatea luării în considerare a caracterului covalent al legăturii M - L .

Se consideră cazul unui ion metalic M^+ care interacționează cu ligandul L ce poartă o pereche de electroni neparticipanți:



În T. O. M. se ia în considerare acoperirea unuia dintre orbitalii hibrizi ai ionului metalic cu orbitalul ligandului rezultând 2 orbitali moleculari: unul de legătură (cu energie mai mică) și unul de antilegătură. Celălalt orbital hibrid al ionului metalic nu participă la proces și rămâne ca orbital de nelegătură:



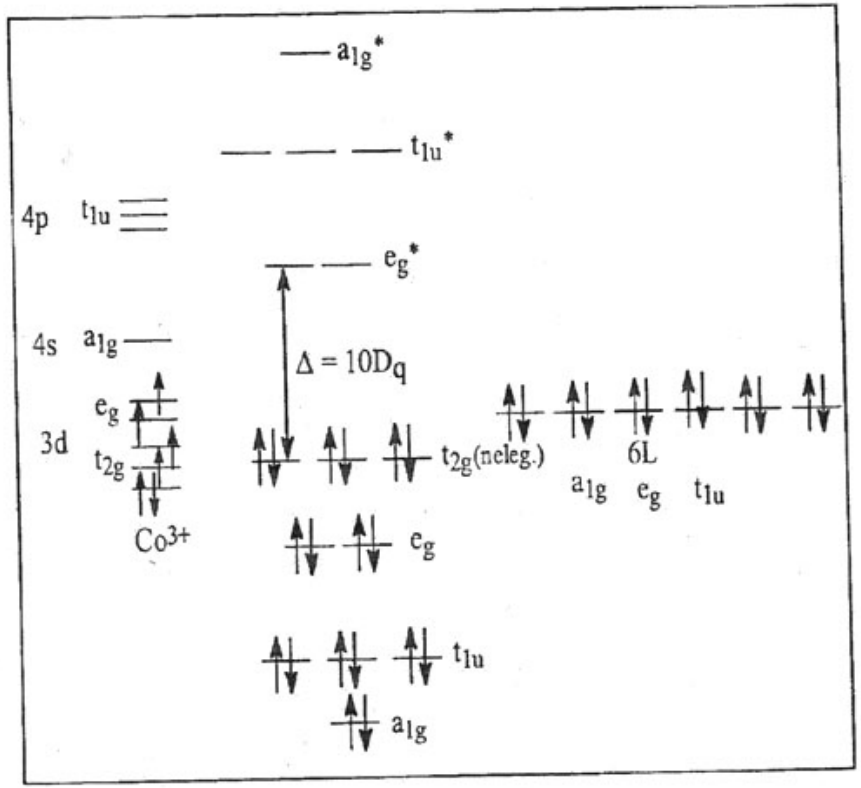
Se știe că orbitalii atomici implicați în realizarea unei legături covalente trebuie să îndeplinească anumite condiții:

- să aibă energii apropiate;
- să aibă aceeași simetrie.

Considerăm cazul unei combinații complexe octaedrice în care se stabilesc numai legături σ: $[CoL_6]^{3+}$.

În această aproximație se amestecă mai întâi orbitalii liganzilor (după teoria grupurilor) rezultând combinații liniare de anumite simetrii. Fiecare de astfel orbital rezultat se amestecă apoi cu un orbital pur al ionului metalic, de aceași simetrie, rezultând 2 orbitali policentrici, unul de legătură (σ) și astfel de antilegătură (σ^*).

Orbitalii ionului metalic ce nu se pot combina din cauza simetrie rămân orbitali de nelegătură:



- dacă $\Delta > P$ (P = energie de împerechere a e^-) – cazul descris mai sus se ocupă întâi t_{2g} și rezultă configurație de spin minim;

- dacă $\Delta < P$ orbitalii t_{2g} și e_g^* se ocupă conform regulii lui Hund rezultând configurație de spin maxim.

II.4. Constante de formare (de stabilitate) ale complecșilor

Contantele de formare oferă o măsură cantitativă a gradului în care un metal va complexa un anumit ligand. Ele au fost măsurate pentru mulți complecși, inclusiv pentru sistemele metal – molecule biologice (aminoacizi, peptide, acizi nucleici). În cazul unei reacții dintre un ion metalic M și un ligand monodentat L există mai multe echilibre succesive:

$$M + L \rightleftharpoons ML \qquad K = \frac{[ML]}{[M]\cdot[L]}$$

$$ML + L \rightleftharpoons ML_2 \qquad K = \frac{[ML_2]}{[ML]\cdot[L]}$$

.....

$$ML_{n-1} + L \rightleftharpoons ML_n \qquad K = \frac{[ML_n]}{[ML_{n-1}]\cdot[L]}$$

$K_1, K_2 \ldots\ldots K_n$= constante de formare în trepte

$$K_1 \cdot K_2 \cdot \ldots\ldots \cdot K_n = \frac{[MLn]}{[M]\cdot[L]^n} = \beta_n = K_{stabiltate}$$

Constanta de instabilitate $K_{instabilitate}$ este inversul constantei de stabilitate. Cu cât valoarea acesteia este mai mică, cu atât combinația complexă este mai stabilă.

Chatt și Ahrland au împărțit ionii metalelor în două grupe:

a) ***clasa a*** – metale alcaline și alcalino – pământoase, zinc, metalele primei serii de tranziționale până la crom. Aceștia formează complecși mai stabili cu liganzi care au atomi donori N, O, F decât cu cei au atomi donori P, S, Cl

b) ***clasa b*** – cuprinde restul metalelor care, în general, nu prezintă importanță biologică.

Pe aceste considerente, ionii metalici (acizi) și liganzi (baze) au fost împărțiți în tari și slabi:

Tabel 2. Clasificarea acizilor și bazelor

Acizi tari: H^+, gr. IA, gr. IIA, gr.IIIA, Mn^{2+}, Cr^{3+}, Fe^{3+},Co^{3+}	**Baze tari**: H_2O, ROH, R_2O, HO^-, RO^-,NH_3, Cl^-, SO_4^{2-} ,NCS, RNH_2
Acizi intermediari : Zn^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{2+},	**Baze intermediare**: py, Br^-, NO_2^-
Acizi slabi: ionii metalelor rare, Cd^{2+}, Pd^{2+}, Tl^+	**Baze slabe:** SCN^-, CN^-, H^-RS^-, R_3P

Ca regulă generală se formează complecși stabili între acizi tari și baze tari sau între acizi slabi și baze slabe.

Constantele de formare și celelalte probleme deja prezentate permit obținerea unor concluzii utile. Astfel se poate prevedea care ligand se va combina cu o serie de ioni metalici și care vor fi mai selectivi în activitatea lor biochimică. Astfel se prezintă preferința ionilor de metale pentru anumiți liganzi:

Tabel 3. Preferința ionilor metalici pentru anumiți liganzi

Ion metalic	Liganzi
K^+	Liganzi neutri sau cu o sarcină, cu atom donor oxigen
Mg^{2+}, K^{2+}, Mn^{2+}	Liganzi cu atom donor azot, fosfat, carboxilat
Fe^{2+}, Cu^+, Zn^{2+}, Mo^{2+}, Cd^{2+}	-SH, cisteină, imidazol
Fe^{3+}, Co^{3+}	$-NH_2$, carboxilat, porfirină, tirozină
Cu^{2+}	Amine, carboxilat

În general, în cazul complecșilor se poate vorbi de o stabilitate efectivă, caracterizată prin constanta de stabilitate și despre o stabilitate relativă față de alți liganzi sau reactivi.

Exemplu:

- complexul cationic $[Cu(H_2O)_4]^{2+}$ există în soluție atâta timp cât nu se adaugă alți liganzi sau reactivi:

- dacă la soluția acestui complex se adaugă NH_3, moleculele de apă sunt înlocuite, cu viteză foarte mare, de molculele de NH_3:

$$[Cu(H_2O)_4]^{2+} + 4NH_3 \rightleftarrows [Cu(NH_3)_4]^{2+} + 4H_2O$$

soluție albastră

rezultă deci că acvocationul complex este labil.

- dacă la soluția albastră se adaugă KCN rezultă un complex anionic conform reacției:

$$[Cu(NH_3)_4]^{2+} + 4CN^- \rightleftarrows [Cu(CN)_4]^{2-} + 4NH_3$$

Acesta este mult mai stabil decât primi doi, ionul Cu^{2+} nemaiputând fi precipitat nici chiar cu ion sulfură. Prin urmare, complexul anionic poate fi considerat un complex inert, iar ceilalți doi complecși labili.

Labilitatea unui complex nu trebuie confundată cu instabilitatea sa. Reacții de substituție pot avea loc și în cazul complecșilor termodinamic – stabil. Prin urmare, labilitatea și inerția se referă la viteza reacțiilor de schimb și nu la stabilitatea efectivă a complecșilor.

II.4.1. Factorii de care depinde stabilitatea complecșilor.

Sunt formați în principal din: însușirile fizico – chimice ale ionului generator complex (care depind de structura sa electronică) și ale ligandului (care depind de structura sa și de natura atomilor donori).

La aceştia se mai adaugă efectele ste[illegible]ce care au o contribuție însemnată la stabilizarea unui complex.

Influența ionului generator de complex.

Structura electronică a ionului metalic [illegible]ntral determină acțiunea polarizantă, polarizabilitatea, natura l[illegible]găturilor, forma gerometrică a complecşilor, proprietățile magnetic[illegible]şi optice, etc.

În funcție de stabilitatea cmplecşilor cu [illegible]ganzi ce conțin atomi donori azot şi oxigen, cationii se pot împărți [illegible]n trei grupe:

a) din prima grupă fac parte cationii [illegible]cu configurație electronică de gaz rar sau care au numă[illegible]mic de electroni *d*. Aceştia formează cei mai stabili com[illegible]plecşi cu liganzi cu atom donor oxigen.

Exemple: Mg(II), Ca (II), Sr (II), Ba (II), [illegible]l (III), Sn (IV), V(V), Fe(III).

b) din a II – a grupă fac parte ionii [illegible]metalici care au aproximativ aceeaşi afinitate față de [illegible]ganzii cu atomi donori de O şi de N şi deci stabilitate[illegible]complecşilor cu altfel de liganzi sunt cam de acelaşi ord[illegible]n de mărime.

Exemple: Be(II), Fe(II), Pd(II), Cr(III) , [illegible]Ru(III), Rh(III), Os(IV), Ir(IV), Pt(IV).

c) din a III- a grupă fac parte ionii [illegible]cu substraturi *d* complete sau aproape complete şi care [illegible]formează cei mai stabili complecşi cu liganzi cu atomi de [illegible]zot.

Exemple: Cu(I), Cu(II), Ag(I), [illegible]l(II), Hg(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), deci ionii puternic pol[illegible]izanți. Unii dintre aceştia formează complecşi stabili şi cu [illegible]ganzi cu atom donor sulf.

III. METALOENZIME PENTRU TRANSPORTUL ŞI STOCAREA OXIGENULUI

În această funcție fiziologică, deosebit de importantă, de transport şi stocare a oxogenului sunt implicate o serie de fier şi cupru-proteine din sânge.

Dintre acestea :

- hemoglobina şi hemeritrina conțin fier şi sunt transportori de oxigen;
- hemocianina şi hemovanadina conțin cupru şi respectiv vanadiu şi sunt tot transportori de oxigen;
- mioglobina conține oxigen şi este depozitară de oxigen.

III.1. Structura moleculară a dioxigenului

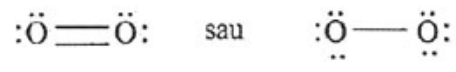
Oxigenul reprezintă unul din cazurile cele mai curioase din știință. Deşi este unul din elementele cele mai abundente din natură el este incomplet cunoscut, mai ales din punct de vedere al proprietăților biologice.

Pentru înțelegerea procesului de activare a dioxigenului, a capacității de peroxidare şi a rolului deosebit de important asupra organismelor vii este necesară înțelegerea structurii atomului şi a moleculei de dioxigen.

Configurația electronică a oxigenului atomic este:

O (^{2}He, $2s^2 2p^4$)

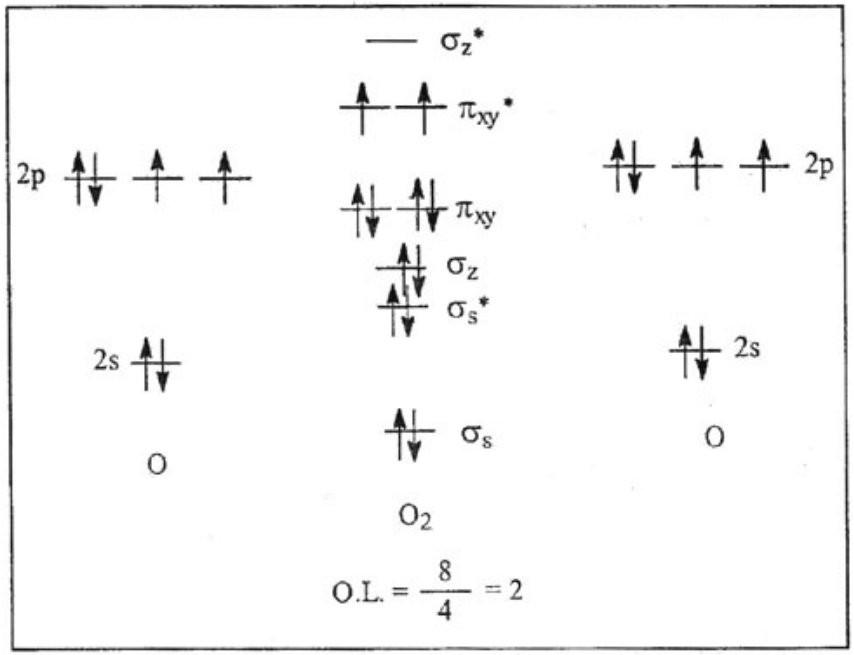
Existența a doi electroni neîmperecheați în substratul *2p* explică instabilitatea acestui atom şi tendința de a forma moleculă de oxigen (dioxigen). Dar şi această moleculă prezintă particularități deosebite. Privită prin prisma Teoriei Legăturii de Valență structura moleculei de oxigen ar putea fi:



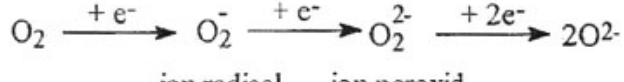
I II

Structura I , deşi corespunde cu lungimea reală a legăturii între atomii de oxigen, nu poate explica paramgnetismul moleculei, iar structura II deşi explică paramagnetismul moleculei nu este corectă deoarece nu corespunde ca lungime a distanței dintre atomi. Pentru a indica existența celor 2 electroni impari Pauling admite că între atomii de oxigen ar exista o legătură specială, formată dintr-o legătură covalentă simplă şi două legături de câte 3 electroni:

Cea mai acceptabilă explicație o dă Teoria Orbitalilor Moleculari. Diagrama energetică pentru molecula de oxigen este:

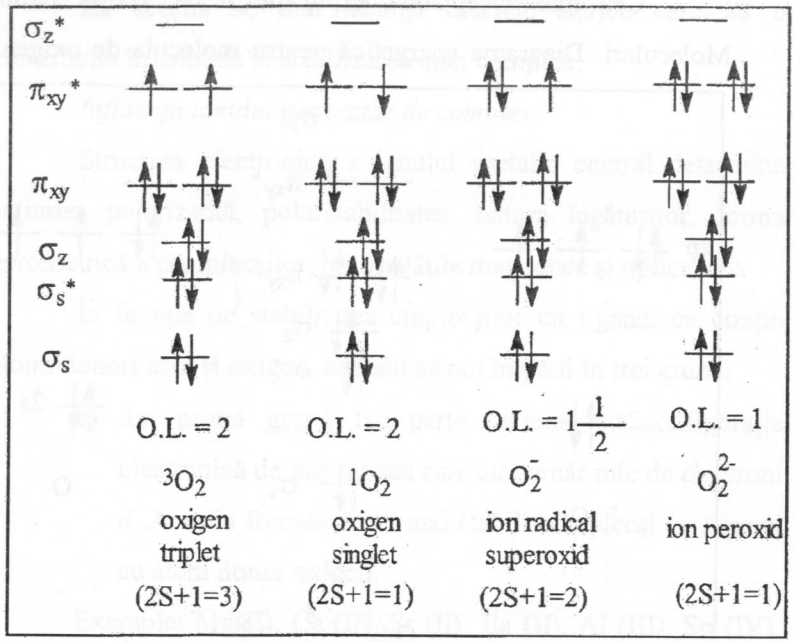


Tendința oxigenului molecular de a accepta electroni este foarte mare:



ion radical superoxid ion peroxid

Configurațiile electronice ale diferitelor specii de oxigen sunt următoarele:



Se observă că în ionul peroxid O_2^{2-} paramagnetismul dispare iar O. L. = 1 deci această specie conține o legătură simplă.

Posibilitatea desfășurării unei reacții redox este limitată de geometria orbitalilor moleculari de antilegătură π_{xy}^*. Aceasta deoarece reducerea implică transferul unor electroni din stratul de valență al ionului metalic la molecula de oxigen, fapt ce necesită o anumită simetrie a orbitalilor ionului metalic.

Studii experimentale au arătat că oxigenul poate exista în mai multe stări energetice:

Oxigenul triplet : $^3O_2$

Oxigenul molecular în stare fundamentală se caracterizează prin 2 electroni impari. Această stare a oxigenului molecular se numeşte *triplet* şi este considerată ca cea mai stabilă din punct de vedere energetic.

Reactivitatea redusă a oxigenului triplet este determinată de faptul că cei 2 electroni din orbitalii de antilegătură π_{xy}^* are acelaşi spin şi pot accepta prin interacție chimică cu atomi su molecule numai eletroni de spin opus.

Aceasta ar însemna că atomii sau moleculele respective să aibă 2 electroni exteriori de acelaşi spin dar de spin opus celor 2 electroni exteriori ai moleculei de oxigen. Deoarece atomii sau moleculele au în marea lor majoritate numai perechi de electroni cuplați oxigenul triplet nu poate accepta asemenea electroni (acceptarea este interzisă de regula spinului).

Oxigenul singlet : $^1O_2$

Oxigenul triplet devine reactiv dacă unul din cei 2 electroni din orbitalii moleculari de antilegătură π_{xy}^* îşi inversează spinul rezultând astfel oxigenul singlet. Inversarea spinului se face prin absorbția de energie radiantă.

Metode practice pentru obținerea $^1O_2$:

a) Metode fizice :

- descărcări electrice de înaltă frecvență în atmosferă de oxigen;

- iradierea oxigenului lichefiat în freon 13 cu radiaţie laser.

b) Metode chimice:

- reacţia Cl_2 şi Br_2 cu H_2O_2:

$Cl_2 + H_2O_2 \rightarrow {}^1O_2\uparrow + 2HCl$

- descompunerea hipocloriţilor de *Na* şi *K* cu H_2O_2:

$NaClO - H_2O_2 \rightarrow {}^1O_2\uparrow + H_2O + NaCl$

- descompunerea peracizilor în mediu bazic:

$2R - CO - OOH \rightarrow {}^1O_2\uparrow + 2\,RCOOH$

Ionul radical superoxid $O_2^{\bullet -}$:

Acest radical liber constituie prima etapă a activării dioxigenului şi se formează prin captarea unui electron care se plasează pe unul din orbitalii de antilegătură $\pi_{x,y}^*$.

Din punct de vedere energetic radicalul superoxid constituie o specie instabilă datorită potenţialului redox mic. El are o viaţă foarte scurtă şi trece în apă oxigenată (H_2O_2) în urma unei reacţii de dismutare:

$$O^-_2{}^{\bullet} + O^-_2{}^{\bullet} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Această reacţie este favorizată, în organism, prin acţiunea unei enzime numită *superoxid dismutaza.*

Radicalul hidroxil HO•

Alături de oxigenul triplet, radicalul hidroxil este cea mai reactivă specie a oxigenului. Metoda cea mai simplă de formare a

radicalului hidroxil este homoliza sau scindarea oxidativă a apei oxigenate sub influenţa căldurii sau a radiaţiilor UV:

$$H_2O_2 \rightarrow 2HO^{\bullet}$$

În organismele vii cea mai probabilă cale de obţinere este reacţia ionilor metalici cu apa oxigenată:

$$Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + HO^- + HO^{\bullet}$$

Radicalul *HO•* reacţionează cu viteze mari cu absolut orice moleculă organică RH (glucide, lipide, aminoacizi, acizi organic, etc.):

$$RH + HO^{\bullet} \rightarrow RH^+ + HO^-$$

$$RH + HO^{\bullet} \rightarrow R^{\bullet} + H_2O$$

Această reacţie subliniază o proprietate esenţială a radicalului hidroxil şi anume aceea de a produce alţi radicali liberi *R•* . Se presupune că formarea acestora determină marea toxicitate a radicalului *HO•* . El poate fi înlăturat din organism în urma reacţiei cu albumina plasmatică şi cu glucoza din sânge.

Peroxidul de hidrogen H_2O_2

Ionul peroxid O_2^{2-} nu are electroni impari şi nici caracter de radical liber. În organism orice peroxid format trece în apă oxigenată .

Principalele reacţii chimice ale H_2O_2 au loc în prezenţa unor ioni metalici:

$$H_2O_2 + HO^{\bullet} \rightarrow H_2O + H^+ + O_2^{\bullet -}$$

$$Fe^{2+} + HO\bullet \rightarrow Fe^{3+} + HO^-$$

Dintre toate speciile reactive ale oxigenului ionul peroxid a fost cel mai mult studiat din mai multe motive:

- peroxizii şi produşii lor de descompunere sunt cei mai stabili;

- ei nu apar numai în organismele vii ci şi în materiale plastice, cauciuc, vopsele, carburanţi,etc.

III.2. Procesul de autooxidare şi peroxidare

Reactivitatea moleculei de dioxigen stă la baza autooxidării şi peroxidării, procese ce apar sub forma unor denumiri uzuale ca îmbătrânire, deteriorare, etc.

Datorită configuraţiei electronice deosebite oxigenul molecular posedă o inerţie chimică. Aceasta poate fi învinsă în urma activării în anumite condiţii şi producerii unor specii foarte reactive cum sunt: oxigenul triplet , ionul radical superoxid, radicalul hidroxil.

Autooxidarea este un proces complex de oxidare cu oxigen molecular (atmosferic) din care peroxidarea constituie etapa iniţială şi principală a mecanismului autooxidării.

Procesul de autooxidare decurge după tipul reacţiilor cu producere de radicali liberi şi are trei etape: iniţierea, propagarea şi întreruperea.

Iniţierea este prima etapă a peroxidării şi constă în producerea de radicali liberi derivaţi din substanţa organică *RH*.

Apariţia radicalilor liberi se datorează unor factori externi (t^0 mari, umezeală, radiaţii, UV, impurităţi) care produc activarea moleculei de O_2 şi dezvoltarea speciilor reactive (superoxid, hidroxil, etc.) care, deşi au un timp de viaţă foarte scurt, pot iniţia o reacţie chimică (ROOH-hidroperoxid).

$$RH \xrightarrow{\text{initiator}} R\cdot + H^+$$

$$2ROOH \xrightarrow{h\nu} R\cdot + ROO\cdot + 2HO\cdot$$

Propagarea, a doua etapă a peroxidării, se caracterizează prin continuarea formării radicalilor liberi şi în special a radicalilor peroxo:

$$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$$
$$ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$$
$$ROOH \rightarrow RO\bullet + HO\bullet$$
$$RO\bullet + RH \rightarrow ROH + R\bullet$$
$$RH + HO\bullet \rightarrow HOH + R\bullet$$

Întreruperea se datoreşte unor reacţii între diferiţi radicali care produc compuşi inactivi:

$$R\bullet + R\bullet \rightarrow R—R$$

$$ROO\bullet + R\bullet \rightarrow ROOR$$

$$R\bullet + HO\bullet \rightarrow ROH$$

Unele biometale tranziţionale (Fe, Cu, Ca, Ni) sunt catalizatori energici ai peroxidării, datorită reacţiei :

$$M^{n+} + O_2 \rightarrow M^{(n+1)+} + O_2^-$$

în care se formează specii active ale dioxigenului.

Dintre ionii metalici Ca^{2+} şi Mn^{2+} se numără printre cei mai activi în catalizarea peroxidării acizilor graşi nesaturaţi, dar cei care au rolul de catalizator principal sunt ionii Fe^{2+} şi Fe^{3+}.

Se pare că mecanismul reacţiei de peroxidare catalizată de ionii metalici presupune formarea unor specii reactive în faza iniţială a peroxidării:

$$Fe^{2+} + ROOH \rightarrow Fe^{3+} + RO\bullet + HO^-$$

Peroxizii sunt oxidanţi puternici care pot modifica sau distruge compuşii biologic activi. Deşi producerea H_2O_2 este un proces normal în organismul viu (este un produs necesar glandei tiroide) se pare că acest proces conduce la modificări patologice.

În concluzie, dioxigenul este cel care iniţiază reacţia de peroxidare – autooxidare prin transformarea sa, în anumite condiţii, în specii reactive care, ulterior, produc radicali peroxo liberi, declanşându-se astfel o reaţie în lanţ.

Viteza de oxidare creşte din cauza activării grupelor metilen (-CH_2-) din vecinătatea sistemelor cu duble legături conjugate sau a acţiunii catalitice a radicalilor liberi proveniţi din descompunerea termică a diferitelor substanţe care produc

hidroperoxizi cu randament mare. Radicalii liberi sunt foarte reactivi.

Autooxidarea este inhibată de substanţe ca vitamina E, care se combină cu radicalii liberi formaţi.

III. 3. Oxigenul molecular ca ligand în biocompuşii de coordinare

Compuşii coordinativi cu oxigen molecular în calitate de ligand prezintă un interes mare pentru chimia bioanorganică deoarece ei pot utilizaţi ca modele simple pentru sistemele biologice care leagă reversibil oxigenul, îl stochează şi îl transportă.

Proteinele principale cu funcţia de stocare şi transport de oxigen sunt cele care conţin fier (mioglobina, hemoglobina şi hemeritrina), cupru (hemocianina) şi vanadiu (hemovanadina).

Interacţiunea ionilor metalici cu oxigenul molecular are loc în două moduri:

$$M^{n+} + O_2 \rightleftharpoons M^{n+}O_2$$
$$2M^{n+} + O_2 \rightleftharpoons M_2^{n+}O_2$$

Această reacţie necesită menţinerea unor condiţii foarte riguroase privind energia şi simetria orbitalilor ionului metalic.

Dioxigenul are o structură destul de complexă şi se carcterizează prin prezenţa a trei orbitali de simetrie diferită

capabilă să formeze legături: σ_z, π_{xy} şi π_{xy}^*. Orbitalii σ_z şi π_{xy} pot acţiona ca donori de e^- în timp ce orbitalul π_{xy}^* poate fi acceptor de e^- datorită prezenţei a două locuri vacante.

În cazul formării unui complex de tipul MO_2 interacţiunile între orbitalii moleculei de O_2 şi orbitalii *s* şi *p* ai ionului metalic sunt foarte slabe, iar dintre orbitalii *d* ai ionului metalic simetrie adecvată pentru a forma legături chimice o au orbitalii d_{xz} şi d_{z2}.

Digrama orbitalilor moleculari pentru un complex MO_2 este următoarea:

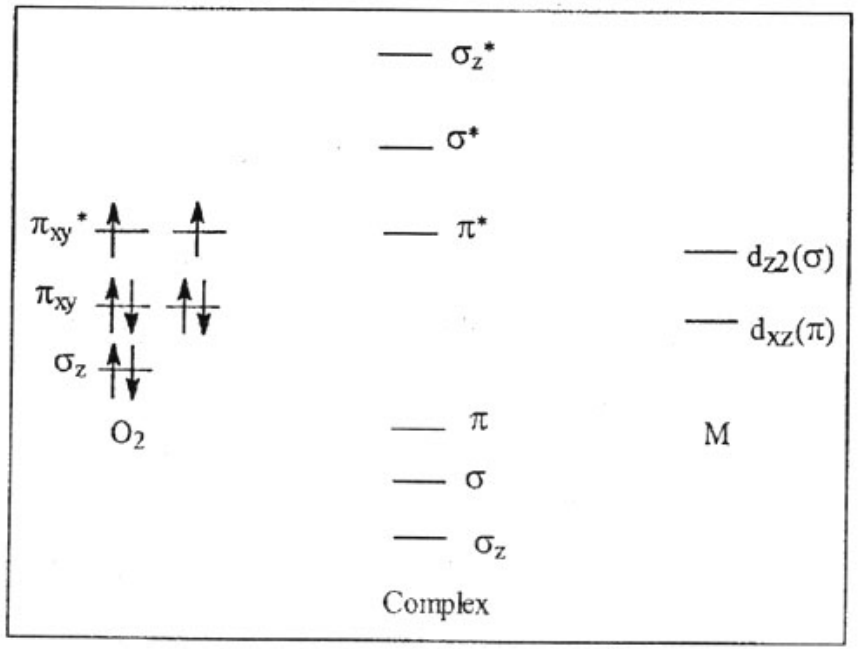


Figura 3. Diagrama de orbitale moleculare a complexului MO_2

Distanţele dintre orbitalii d_{z2} şi d_{xz} trebuie să fie minime; această condiţie se păstrează în compuşii de coordinaţie plan – pătratici sau în cei de tip bipiramidă pătratică (octaedrici).

Dintre compuşii de coordinaţie ai oxigenului molecular cei mai studiaţi au fost cei cu *Co(II)* care mai conţin ca liganzi aminoacizi sau peptide.

Aceşti compuşi coordinativi au o structură plană şi formează o punte între doi atomi de cobalt.

III.4. Proteine care fixează reversibil oxigenul

Trecerea de la viaţa anaerobă la cea aerobă a fost un pas important în evoluţie penru că s-a descoperit un adevărat rezervor de energie (în prezenţa oxigenului se extrage din glucoză de 8 ori mai multă energie decât în absenţa acestuia).

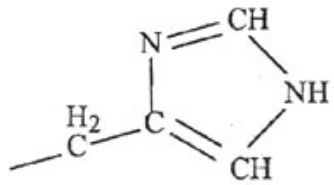
Vertebratele şi-au dezvoltat două mecanisme principale pentru înlocuirea celulelor lor cu un continuu flux de oxigen. Primul este un sistem circulator care distribuie activ oxigen celulelor. În absenţa acestui sistem, mărimea unui organism aerob ar fi limitată la aproximativ 1 mm pentru că difuzia prea lentă a oxigenului nu satisface nevoile celulelor. Al doilea mare mecanism este dezvoltarea moleculelor transportoare de oxigen pentru a depăşi limita impusă de slaba solubilitate a oxigenului în apă.

Transportorii de oxigen din vertebrate sunt miglobina şi hemoglobina. Hemoglobina, conţinută în celulele roşii din sânge

ajută la transportul oxigenului în sânge. Prezenţa hemoglobinei sporeşte capacitatea de transport a unui litru de sânge de la 5 la 250 ml oxigen. Hemoglobina joacă un rol vital şi în transportul CO_2–ului şi a ionilor de hidrogen. Mioglobina, aflată în muşchi, serveşte ca rezervă de oxigen şi uşurează mişcarea oxigenului prin muşchi.

III.4.1. Mioglobina şi hemoglobina

Mioglobina este o proteină cu rol transportor de oxigen, izolată din ţesutul muscular. Are greutate moleculară ~17000 şi este alcătuită dintr-o unitate *hem* şi un lanţ polipeptidic format din ~ 153 aminocizi (hemul este ansamblu format din ionul de fier şi porfirina, ansamblu menţinut în proteină de o legătură între ionul de fier şi o grupare de histidină).



Analiza de raze X dezvăluie structura mioglobinei, dar nu poate explica de ce mioglobina se formează în acest fel.

O generalizare apărută din structura mioglobinei este aceea că interiorul său constă din resturi nepolare. Resturi precum valina, leucina, izoleucina, metionina şi fenilamina sunt hidrofobe. Având de ales între un mediu nepolar şi apă ele preferă mediul nepolar. Ba

chiar mai mult există forţe de atracţie sau van der Waals între aceste părţi ale lanţului.

Astfel, o importanţă deosebită în formarea mioglobinei este tendinţa acestor resturi de a pleca din apă. Aceste părţi hidrofobe sunt, din punct de vedere termodinamic, mai stabile atunci când se adună în interiorul moleculei decât atunci când se află într-un mediu apos. Această stabilitate apare în procesul de formare datorită creşterii entropiei. Deci lanţul polipeptidic se formează spontan în soluţie apoasă astfel încât partea sa hidrofobă este în interior (ascunsă) iar partea polară se găseşte la suprafaţă.

Hemoglobina

Spre deosebire de mioglobină, hemoglobina este formată din 4 lanţuri polipeptidice care sunt strâns legate prin interacţiuni necovalente.

Deoarece fiecare lanţ conţine câte o grupare hem, există 4 locuri în care se poate lega oxigenul.Hemoglobina A, principala hemoglobină la adulţi, este formată din 4 lanţuri polipeptidice, 2α şi 2β . De asemenea, există la adulţi în cantitate mică (2%) şi hemoglobina A_2 care are structură α_2 şi β_2. Lanţul α conţine 141 resturi de amino-acid, iar lanţul β 146 resturi amino-acid. Structura tridimensională a hemoglobinei A a fost descoperită de Max Perutz şi colaboratorii săi prin investigaţii cu raze X. Molecula de hemoglobină este aproape sferică, având un diametru de 55Å. Cele 4 lanţuri formează o geometrie tetradrică.

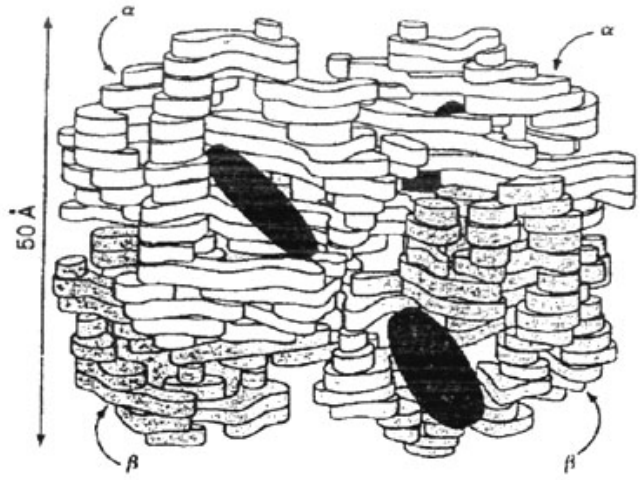


Figura 4. Structura hemoglobinei

Grupările hemice sunt localizate aproape de exteriorul moleculei câte una la fiecare lanț. Fiecare lanț α este în contact cu ambele lanțuri β. Ele se aseamănă mult cu cele din mioglobină.

Mioglobina Lanț β în hemoglobină

Figura 5. Comparație între lanțurile β de mioglobină şi hemoglobină

Sunt cunoscute secvențele de amino – acizi din hemoglobină la mai mult de 20 de specii (animale şi până la oameni). O

comparație a acestor secvențe arată că majoritatea pozițiilor variază. Oricum, există 9 poziții care conțin același aminoacid la aproape toate speciile studiate până acum, poziții extrem de importante în funcționarea hemoglobinei (multe dintre ele sunt implicate direct în legarea oxigenului).

Tabel 4. Aminoacizi reziduali întoate speciile de hemoglobină

Poziție	*Aminoacid*	*Rol*
F8	Histidină	Se leagă de hemul proximal
E7	Histidină	Histidină distală
CD1	Fenilalanină	Contact cu hemul
F4	Leucină	Contact cu hemul
B6	Glicină	Închide helixul
C2	Prolină	Terminația helixului
HC2	Tirosină	Traversează helixul
C4	Treonină	Nesigur
H10	Lisină	Nesigur

Mioglobina este situată în mușchi; în condițiile de presiune din mușchi afinitatea mioglobinei pentru oxigen este mult mai mare decât afinitatea hemoglobinei; de aceea în mușchi hemoglobina cedează O_2 mioglobinei. În plămâni însă, presiunea în O_2 este suficient de mare pentru ca hemoglobina să se satureze în oxigen.

Într-un mediu bogat în CO_2 (deci la un pH mai scăzut) afinitatea hemoglobinei pentru O_2 scade. Deci, oxigenul este eliberat mai uşor şi este uşurată dizolvarea CO_2 – ului sub formă de HCO_3^- ceea ce contribuie la eliminarea acestuia. Aceste diferenţe de funcţionare între cele 2 proteine sunt esenţiale din punct de vedere biologic şi sunt legate de diferenţele care există între structurile lor.

Legarea CO este diminuată de prezenţa histidinei distale

Monoxidul de carbon este toxic deoarece se combină cu feromioglobină şi ferohemoglobina, iar ulterior interferă în transportul oxigenul. Afinitatea mioglobinei şi hemoglobinei pentru legarea CO este aproape de 200 de ori mai mare decât cea pentru legarea oxigenului.

Cristalografia cu raze X pe complecşi izolaţi a arătat că marea afinitate a CO la mioglobină în aceşti complecşi (de 25.000 mai mare ca a oxigenului) se datorează faptului că atomi de Fe, C şi oxigen se găsesc într-o aranjare liniară.

În constrat, în carbonmonoximioglobină, axa moleculei ce CO face un unghi cu legătura Fe - C. Legarea liniară este împiedicată steric de histidina distală E7. Astfel, proteina forţează ca să se lege sub un anumit unghi mai degrabă decât liniar. Această geometrie în globine slăbeşte interacţiunea hemului cu CO şi optimizează legarea O_2.

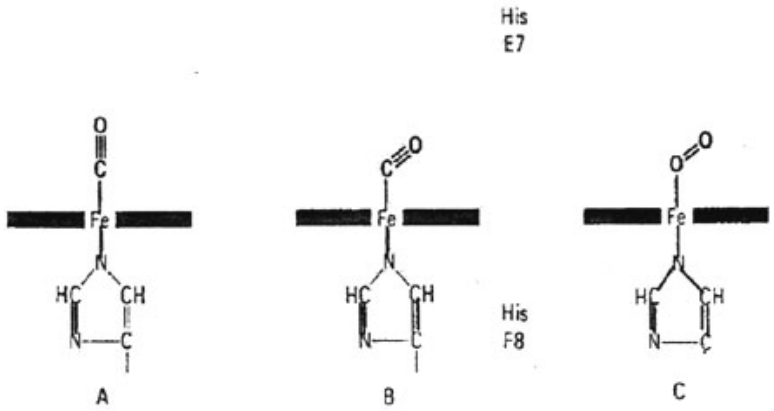


Figura 6. Afinitatea Hb şi Mb pentru CO

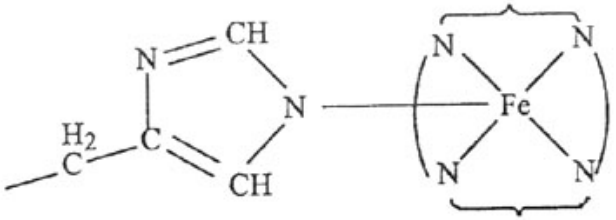
A. Legarea liniară a CO la un fier porfirinic izolat

B. Legarea unghiulară a CO la mioglobină şi hemoglobină

C. Legarea O_2 la mioglobină şi hemoglobină la un fier porfirinic izolat

Ceea ce este caracteristic mioglobinei este faptul că prin legarea oxigenului valenţa ionului de fier rămâne constantă *Fe(II)*. Mai mult decât atât, oxidarea la *Fe(III)* duce la pierdere proprietăţilor biologice, specia rezultată purtând numele de *metmioglobină* (fenomen întâlnit şi în cazul hemoglobinei).

În forma dezoxigenată a acestor proteine ionul de fier (II) este pentacoordinat fiind legat de cei 4 atomi de azot ai porfirinei şi de un atom de azot histidinic:



Înconjurarea realizată este de piramidă pătrată.

Prin oxigenare rezultă oximioglobină (şi respectiv oxihemoglobină) în care fierul este hexacoordinat. S-a presupus că molecula de oxigen va fi legată astfel încât ambii atomi să fie aşezaţi la distanţe egale de metal. Câmpul liganzilor creat de sistemul fier – hem este posibil să scindeze orbitalii moleculari de antilegătură, degeneraţi ai moleculei de oxigen.

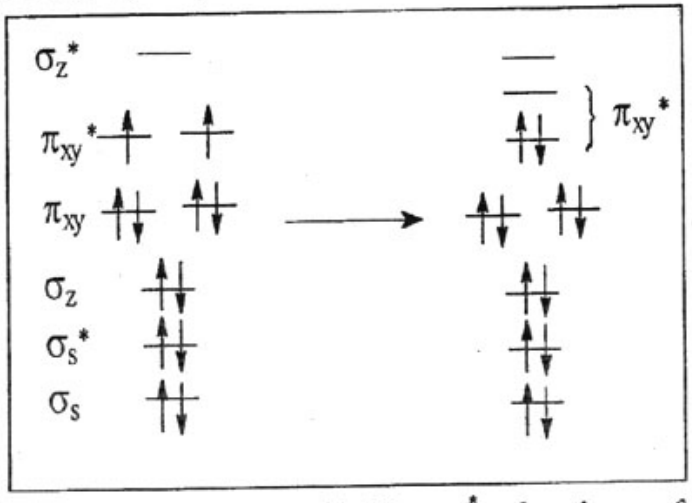


Figura 7. Scindarea orbitalilor π_{xy}^* sub acţiunea câmpului liganzilor

Separarea dintre cei doi orbitali de antilegătură este destul de mare şi astfel se realizează împerecherea celor doi electroni, formele oxigenate devenind diamagnetice.

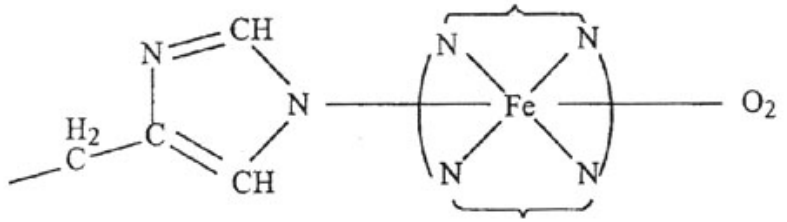


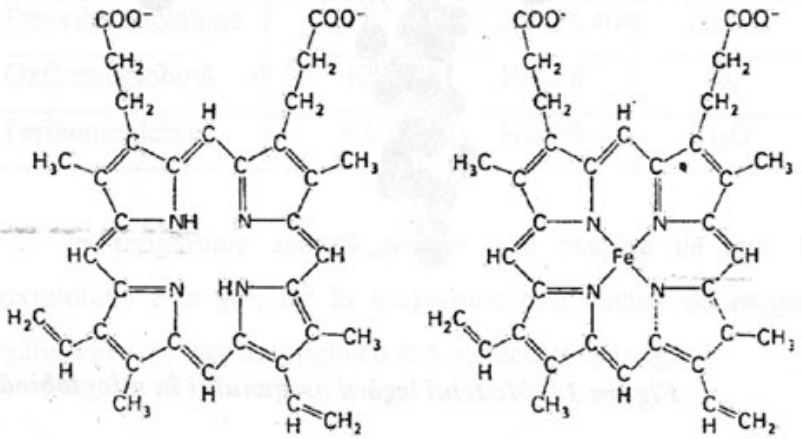
Figura 8. Legarea oxigenului la hemoglobină

În cea de-a şasea poziţie de coordinare se pot lega şi alţi liganzi în locul oxigenului. Liganzii care stabilesc legături π puternice sunt favorizaţi şi de aceea, monoxidul de carbon sau liganzii care conţin sulf şi fosfor se pot lega mai uşor decât oxigenul. Astfel, în prezenţa acestora hemoglobina este blocată şi devine inaccesibilă pentru transportul oxigenului (de exemplu prin coordinarea *CO* se formează carboxihemoglobina care, având o stabilitate de 200 de ori mai mare decât cea a oxihemoglobinei, se descompune foarte încet).

Oxigenul se leagă la o grupare prostetică de hem.

Capacitatea mioglobinei sau hemoglobinei de a lega oxigenul depinde de prezenţa unei unităţi nonpolipeptidă numită grupare **hemică.** De asemenea, hemul dă mioglobinei şi hemoglobinei culori diferite.

Hemul este compus dintr-o parte organică şi un atom de fier. Partea organică, protoporfirina, este alcătuită din 4 grupări pirol. Acestea sunt legate prin punţi metin şi formează un ciclu tetrapirolic. Acestui ciclu îi sunt ataşate 4 metili, 2 vinili şi grupări propinat. Există cinsprezece posibilităţi de aranjare a acestora dintre care doar unul dintre izomeri, protorfirina IX este prezent în sistemele biologice.



Protoporfirina IX Hem

Figura 9. Protoporfirina IX şi hemul

Atomul de fier din hem se leagă cei patru atomi de azot în centrul ciclului protoporfirinic. El poate forma două legături adiţionale de o parte şi de cealaltă a planului hemului. Aceste legături sunt aşezate astfel încât să formeze a 5 – a şi a 6 – a poziţie de coordinare.

Atomul de fier din hem poate fi în stările de oxidare feroasă (+2) şi ferică (+3). Formele corespunzătoare ale hemoglobinei se numesc fero– şi ferihemoglobină. Ferihemoglobina se mai numeşte şi methemoglobină. Dintre cele două forme doar ferohemoglobina (cu fierul în stare de oxidare + 2) poate lega oxigenul. Aceeaşi nomenclatură se aplică şi în cazul mioglobinei.

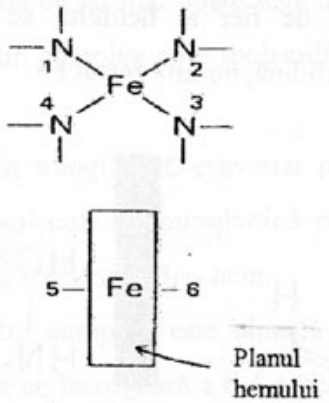


Figura 10. Legarea fierului de protoprfirină

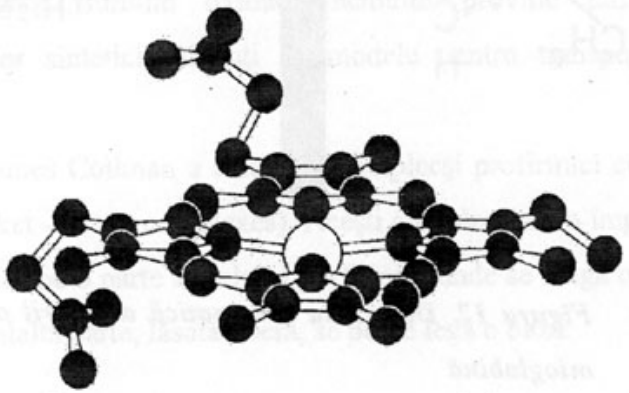


Figura 11. Gruparea hemică în mioglobină

Poziționarea legăturii cu oxigenul în globine

Gruparea hem este localizată într-un gol din molecula globinei, iar grupările propionat se află suprafața moleculei. La pH fiziologic aceste grupări sunt ionizate. Restul hemului se găseşte în interiorul moleculei unde este înconjurat de către resturi nonpolare (cu excepția celor două cicluri histidinice).

Atomul de fier al hemului se leagă direct la una din grupările de histidină, numită restul F8.

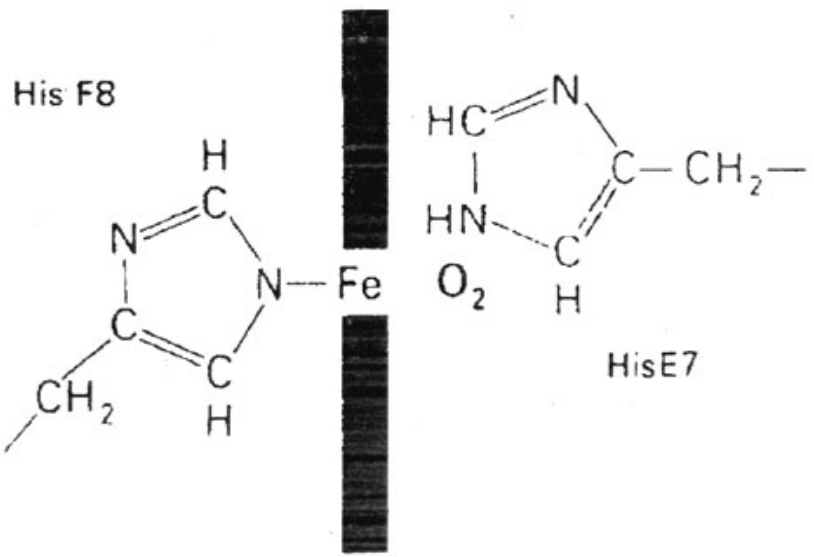


Figura 12. Diagrama schematică a legării oxigenului în mioglobină

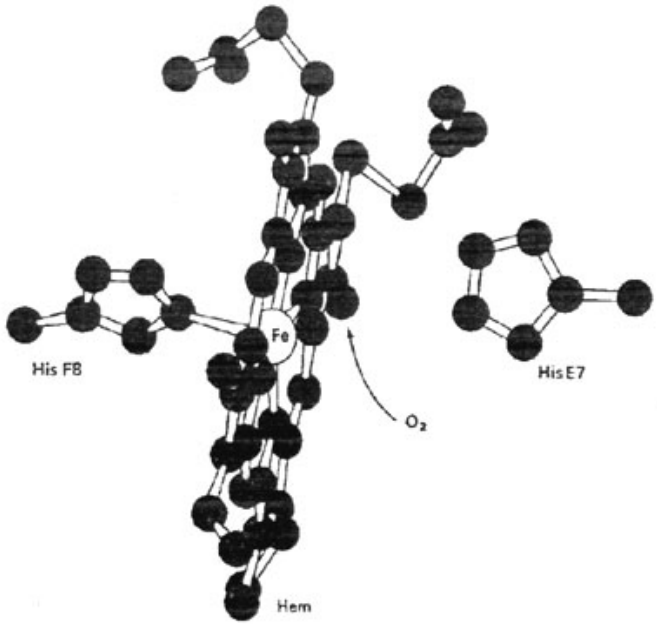


Figura 13. Modelul legării oxigenului în mioglobină.

Această grupare histidinică, care ocupă a 5–a poziție de coordinare, este cea mai apropiată de planul hemului. Atomul de fier se găseşte la aproape 0,3 Å de planul porfirinic pe partea histidinei F8.

Legarea oxigenului se realizează pe cealaltă parte a planului hemic la a 6– a poziție de coordinare. Cel de-al doilea rest histidinic (E7), numit *histidină distală*, se află în apropierea acestei poziții de coordinare. Ea nu se leagă de hem.

Au fost analizate trei forme fiziologice posibile ale mioglobinei: deoximioglobina, oximioglobina şi ferimioglobina. Conformaţiile lor sunt identice cu excepţia celei de-a 6 – a poziţii de coordinare.

Tabel 5. Tipuri de globine

Forma	*Stare de oxidare Fe*	*Liganzi*	
		Poziţia 5	*Poziţia 6*
Deoxihemoglobină	+2	His F8	Liberă
Oxihemoglobină	+2	His F8	O_2
Ferihemoglobină	+3	His F8	H_2O

În feriglobine această poziţie este ocupată de apă; în deoxiglobine este gol, iar în oxiglobine este ocupat de oxigen. Legătura Fe – O face un unghi cu axa moleculei de oxigen.

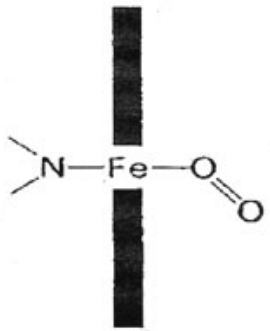


Figura 14. Orientarea moleculei de oxigen în oxiglobine

Oxigenul se leagă direct de atomul de fier al hemului. Care este însă partea de polipeptidă care se ocupă cu transportul şi stocarea acestuia? Răspunsul a fost dat prin interpretarea proprietăţilor legării oxigenului la un grup hem izolat.

În apă o grupare hem feroasă izolată poate lega oxigenul, dar pentru un timp scurt. Motivul este că în apă hemul feros este rapid oxidat la hem feric ce nu mai poate lega oxigen. Intermediar în această reacţie este un complex cu o moleculă de oxigen presată între 2 hemi.

Grupul hem din mioglobină este mai puţin susceptibil la oxidare pentru că 2 molecule de mioglobină pot fi uşor asociate pentru a forma un complex hem – O_2 – hem.

Formarea acestui complex este blocată steric de histidina distală şi de alte resturi ce înconjoară a 6 – a poziţie de coordinare. Cea mai puternică dovadă pentru importanţa factorilor sterici în determinarea ritmului oxidării hemului provine din studiul compuşilor sintetici utilizaţi ca modele pentru transportorii de oxigen.

James Collman a sintetizat complecşi profirinici cu ioni de fier (picket – fence complexes). Aceşti complecşi au o împrejmuire protectoare pe o parte a ciclului porfirinic (unde se leagă oxigenul), iar pe cealaltă parte, lăsată liberă, se poate lega o bază.

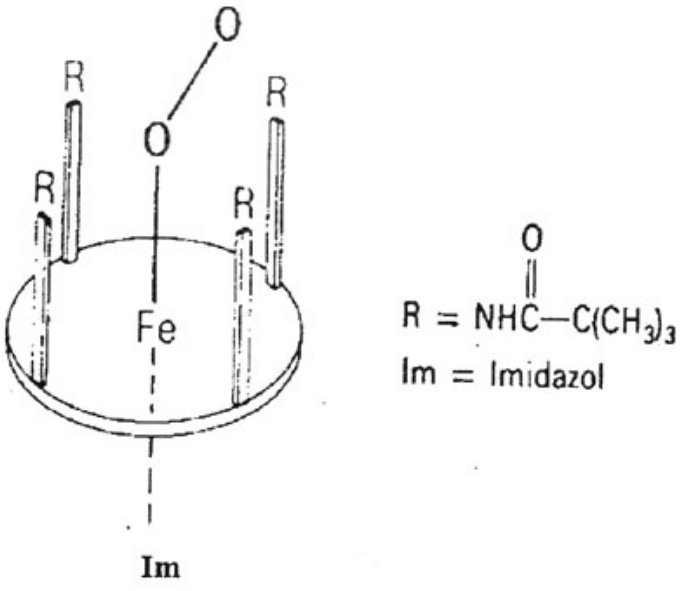


Figura 15. Diagrama schematică a unui complex picket-fence

Atunci cand baza este un derivat imidazolic afinitatea oxigenului la acest complex este similară cu afinitatea sa la mioglobină. Mai mult, împrejmuirea protectoare stabilizează forma feroasă (+2) a fierului porfirinic şi astfel nu permite legarea reversibilă a oxigenului pentru mult timp.

Marea diferenţă dintre acest compus şi un hem obişnuit o reprezintă prezenţa acestei împrejmuiri protectoare ce blochează formarea unui dimer.

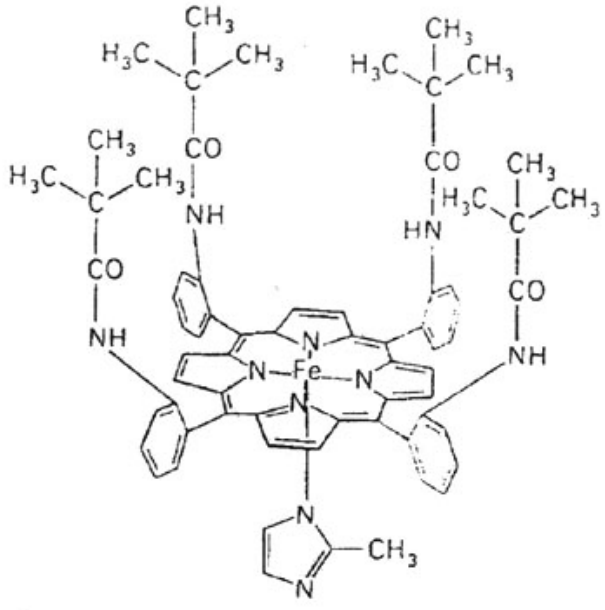


Figura 16. Formula structurală a unui complex picket – fence al fierului porfirinic.

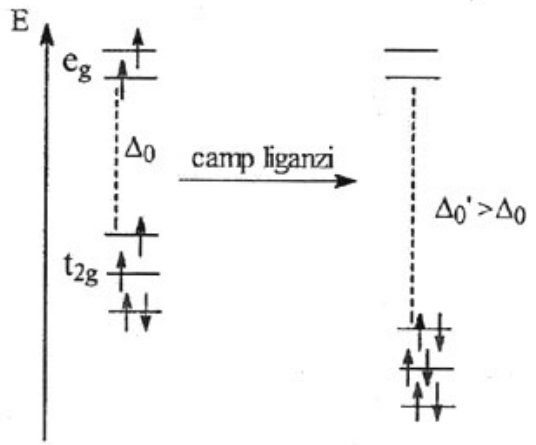
Stereochimia hemoglobinei şi mioglobinei

Dacă cea de-a şasea poziţie de coordinare în hemoglobină este ocupată, liganzii sunt aranjaţi într-o primă aproximare într-o stereochimie octaedrică; dacă se consideră că porfirina se găseşte în planul *xy*, histidina şi oxigenul se vor găsi pe axa *z*.

- efectul câmpului octaedric al liganzilor în speciile oxigenate (oxihemoglobina HbO_2 şi oxihemioglobină MbO_2)

constă în separarea energiei orbitalilor e_g (direcţionaţi către liganzi) de cea orbitalilor t_{2g} (neorientaţi către ligazi).

- mărimea scindării dintre grupul de orbitali e_g şi t_{2g} este mult influenţată de interacţia π. Porfirina, histidina precum şi cel de-al şaselea ligand posedă orbitali electronici (p sau π) perpendiculari pe legăturile σ dintre fier şi liganzi. Aceşti orbitali interacţionează cu orbitalii t_{2g} ai Fe(II) printr-un mecanism π şi pot creşte astfel scindarea în câmpul octaedric prin scăderea energiei orbitalilor t_{2g}.



De aceea, speciile dezoxigenate (*Hb* şi *Mb*) sunt paramagnetice conţinând *Fe(II)* tip spin maxim iar după coordinarea oxigenului, speciile MbO_2 şi HbO_2 (oxigenate) sunt diamagnetice

de tip spin minim. Modificarea spinului se explică prin creşterea parametrului de scindare $10\Delta q$ fie datorită interacţiilor π, fie datorită împingerii ionului de fier mai aproape de planul hemului (porfirină) crescând astfel câmpul ligandului porfiric.

La oxigenarea hemoglobinei, atomul de fier se mişcă în planul profirinic:

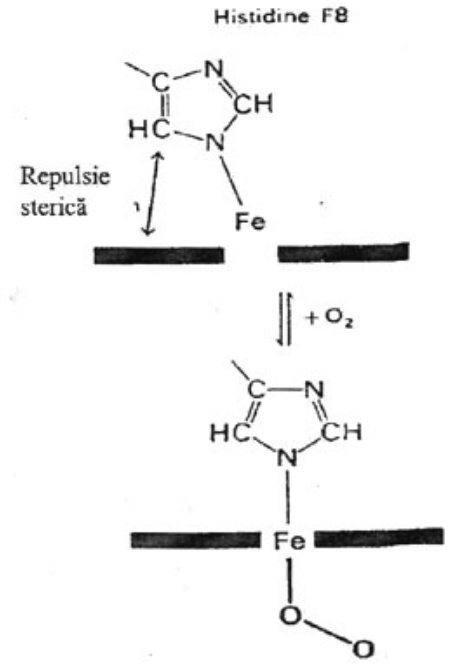


Figura 17. Mişcarea atomului de Fe la oxigenarea hemoglobinei

În deoxihemoglobină, atomul de fier este la aproape 0,6 Å în afara planului de hem, deoarece există o repulsie sterică între

histidină şi atomii de azot ai porfirinei. La oxigenare atomul de fier se mută în planul porfirinic, astfel încât poate forma o legătură puternică cu oxigenul. Energia câştigată la formarea acestei legături este aproximativ egală cu energia consumată la aducerea histidenei mai aproape de planul hemului.

Studiile structurale au arătat că atunci când este în afara planului atomul de fier este pentacoordinat în timp ce atunci când este în planul porfirinei este hexacoordinat.

Legătura fier – oxigen.

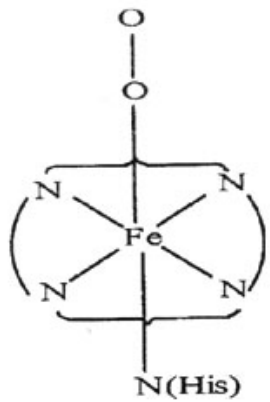
Deşi au fost efectuate numeroase studii de raze X, RMN, RES şi Mössbauer, controversa în privinţa structurii legăturii *Fe – O_2* este încă nerezolvată.

În general, este acceptat că la formarea legăturii participă electronii din orbitalii d_{xy} şi d_{yz} ai ionului *Fe(II)*. Controversa este în legătură cu orientarea moleculei de O_2 faţă de planul hemului şi cu transferul de electroni de la *Fe(II)* la O_2.

În legătură cu orientarea O_2 faţă de planul hemului sunt de menţionat următoarele structuri propuse:

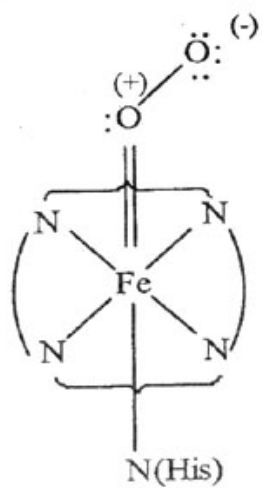
a) prima structură conţine molecula de O_2 orientată perpendicular pe planul porfirinei.

Ulterior s-a recunoscut că o astfel de orientare nu ar ridica degenerarea celor doi orbitali de antilegătură π_{xy}^* ai moleculei de O_2 şi prin urmare nu poate explica diamagnetismul observat la speciile oxigenate.

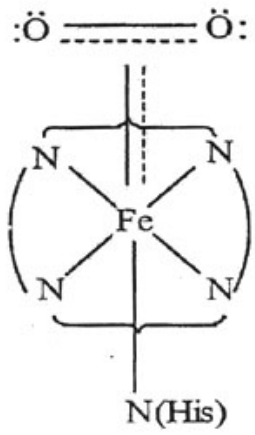


b) a doua structură a fost propusă de Pauling şi consideră axa moleculei O_2 orientată cu un unghi de 120^0 faţă de planul hemului.

În această structură cei 2 electroni impari ai moleculei de O_2 se cuplează într-un orbital antiliant şi se formează o dublă legătură între aceştia şi electronii ionului *Fe(II)* din orbitalii d_{xy} şi d_{yz}.



c) Griffith a propus o altă structură, cu axa moleculei de O_2 paralelă cu planul hemului:



În această structură cei 2 electroni impari ai oxigenului sunt implicați în legătură σ cu *Fe(II)*; o legătură π se realizează între orbitalii d_{xz} și d_{yz} ai *Fe(II)* și alți orbitali π ai moleculei de O_2. Griffith se bazează pe faptul că cei 2 electroni π impari ai oxigenului sunt mai slab legați de O_2 și mai ușor implicați în legătură σ cu *Fe(II)*.

Studiile efectuate pe modele pentru transportorii de oxigen au arătat că ultimele două moduri de legare sunt plauzibile, iar o determinare relativ recentă cu raze X asupra MbO_2 (oximioglobină) indică un unghi de 120° între axa moleculei de O_2 și planul hemului, în concordanță cu structura propusă de Pauling.

În afară de orientarea legăturii $Fe\text{-}O_2$ există, de asemenea, controversă în legătură cu transferul electronic de la *Fe(II)* la O_2. În structurile propuse de Pauling și Griffith, electronii π sunt egal distribuiți, fără vreun transfer electronic semnificativ.

a) s-a presupus că în speciile oxigenate MbO_2 și HbO_2 un electron este transferat de la *Fe(II)* la O_2 ; combinațiile rezultate pot fi descrise ca specii ale *Fe(III)* spin minim cu anionul superoxid O_2^-. În acest model, HbO_2 și MbO_2 au doi electroni impari, unul localizat pe *Fe(III)* ($t^5{}_{2g}$) și altul pe anionul $O^-{}_2$. Diamagnetismul ar rezulta prin cuplarea spinilor celor 2 ioni adiacenți.

b) în anul 1971, Gray a studiat un model de superoxid pe baza poziției ionului O_2^- în seria spectrochimică a liganzilor, demonstrând că un complex de tipul hem – superoxid trebuie să fie de tip spin maxim, adică HbO_2 să fie paramagnetică. Mai mult, O_2 legat asimetric (ca și ionul O_2^-) trebuie să conducă la apariția în spectrul I. R. a unei benzi de absorbție corespunzătoare vibrației de valență, bandă care nu a fost observată. De aceea, Gray a sugerat că legarea O_2 la *Hb* implică transferul a 2 electroni de la *Fe(II)* la O_2, rezultând un complex al *Fe(IV)* cu O_2^{2-} (anion peroxid).

III.4.2. Hemoglobina – proteină alosterică

Hemoglobina este o moleculă mult mai complicată decât mioglobina:

- în primul rând hemoglobina transportă împreună cu O_2 şi H^+ şi CO_2;
- în al doilea rând, legarea O_2 la hemoglobină este reglată de H^+, CO_2 şi compuşi organo-fosforici. Aceste molecule au o mare influenţă asupra legării O_2 de hemoglobină chiar dacă se leagă în proteină în locuri depărtate de hem.

Interacţiunile care apar între locuri spaţial diferite, numite ***interacţiuni alosterice***, apar în mai multe proteine. Efectele alosterice joacă un rol critic în controlul şi mişcarea moleculelor în sistemele biologice.

Hemoglobina este o proteină alosterică în timp ce mioglobina nu este. Această diferenţă este exprimată în 3 feluri:

1) legarea unei molecule de O_2 la hemoglobină favorizează legarea suplimentară (în plus) a altor molecule de O_2 la aceeaşi moleculă de hemoglobină. Cu alte cuvinte O_2 se leagă foarte strâns de hemoglobină.
2) afinitatea hemoglobinei pentru O_2 depinde de pH, pe când cea a mioglobinei este independentă de pH. De asemenea, legarea O_2 de hemoglobină este influenţată şi de molecula de CO_2;

3) afinitatea O_2 la hemoglobină este reglată şi de fosfaţi organici ca difosfoglicerina.

Dacă se notează cu γ saturaţia (definită ca fracţia de ocupare a locurilor din hemoglobină cu legături cu O_2) γ poate lua valori de la 0 (zero) (toate locurile goale) până la 1 (unu) (toate locurile pline).

Graficul $\gamma = f(p_{O2})$ (p_{O2} = presiunea parţială a O_2) se numeşte *curba disociativă a O_2*.

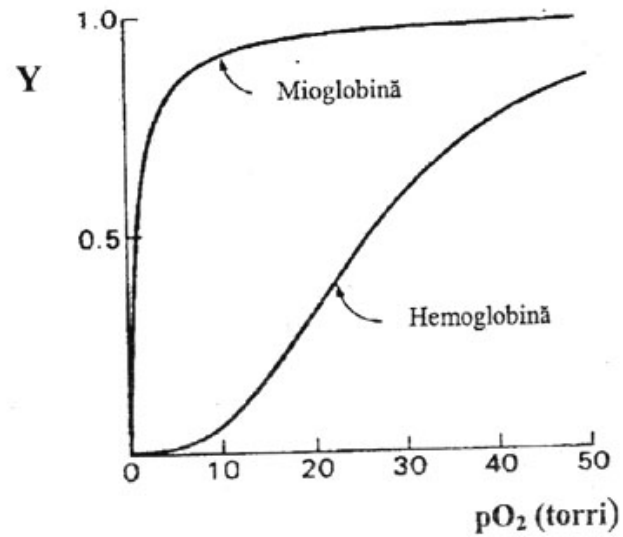


Figura 18. Curbele disociative ale Mb şi Hb

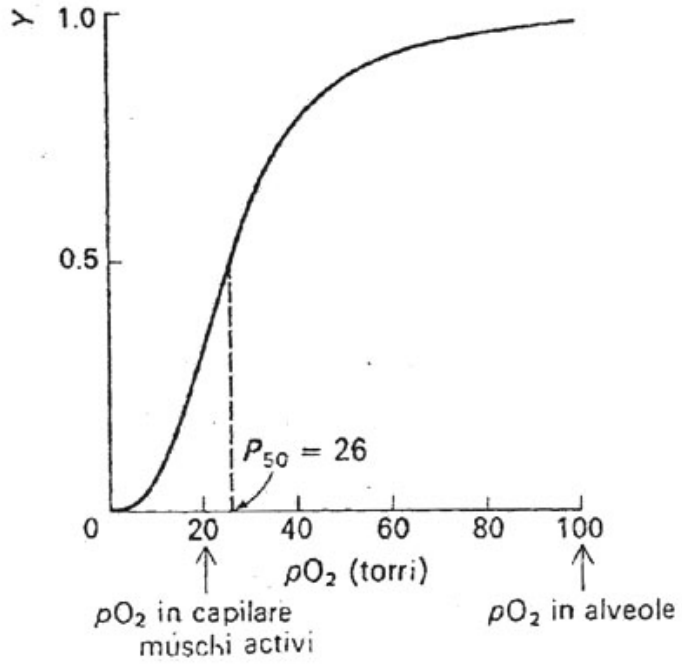


Figura 19. Curba disociativă a hemoglobinei

Curbele disociative ale O_2 pentru hemoglobină şi mioglobină diferă în 2 moduri:

- se observă că pentru orice valoare a p_{O2} saturaţia γ este mai mare pentru mioglobină decât pentru hemoglobină. Cu alte cuvinte mioglobina are o afinitate mai mare pentru O_2 decât hemoglobina;
- afinitatea O_2 poate fi caracterizată printr-o valoare a presiunii parţiale a O_2 numită p_{50}, care este presiunea parţială a O_2 pentru care jumătate din locurile din proteină sunt ocupate cu legături cu O_2. Pentru

mioglobină p_{50} este 1 torr în timp ce pentru mioglobină 26 torri.

A doua diferenţă este aceea că forma curbei disociative este hiperobolă pentru mioglobină şi sinusoidă pentru hemoglobină. În termeni moleculari aceasta înseamnă că legătura Hb – O_2 este foarte strânsă, legarea O_2 la un hem uşurând legarea ulterioară a O_2 şi de alţi hemi.

Cantitativ, legătura dintre O_2 şi mioglobină poate fi descrisă de echilibrul:

$$MbO_2 \rightleftharpoons Mb + O_2 \qquad (1)$$

$[MbO_2]$ = conc. de oxihemoglobină

$$K = \frac{[Mb]\cdot[O_2]}{[MbO_2]} \qquad (2)$$

unde [Mb] = conc. de deoxihemoglobină

$[O_2]$ = conc de O_2 necombinat

Saturaţia fracţională γ este definită astfel:

$$\gamma = \frac{[MbO_2]}{[MbO_2]+[Mb]} \qquad (3)$$

$$\text{Din (2)} \Rightarrow \quad [MbO_2] = \frac{[Mb]\cdot[O_2]}{K}$$

$$[Mb] = \frac{K\cdot[MbO_2]}{[O_2]} \Rightarrow$$

$$\Rightarrow \gamma = \frac{\frac{[Mb]\cdot[O_2]}{K}}{\frac{[Mb]\cdot[O_2]}{K}+\frac{K\cdot[MbO_2]}{[O_2]}} = \frac{\frac{[Mb]\cdot[O_2]}{K}}{\frac{[Mb]\cdot[O_2]}{K}\left[1+\frac{K[MbO_2]}{[O_2]}\cdot\frac{K}{[Mb]\cdot[[O_2]}\right]} =$$

$$= \frac{1}{1+\frac{K}{[O_2]}} = \frac{[O_2]}{[O_2]+K} \Rightarrow \gamma = \frac{[O_2]}{[O_2]+K} \qquad (4)$$

Deoarece O_2 este un gaz este mai convenabil că exprimăm concentrația lui în p_{O2} (presiunea parțială a O_2) şi astfel ecuația (4) devine:

$$Y = \frac{p_{O_2}}{p_{O_2}+p_{50}} \qquad (5)$$

Ecuația (5) are ca grafic o hiperbolă. Considerând p_{50}=1 torr curba disociativă rezultată se potriveşte cu cea observată experimental pentru mioglobină.

În contrast, deoarece în cazul hemoglobinei curba disociativă este sinusoidală, nici una din curbele descrise de ecuația (5) nu se potriveşte. De aceea considerăm un model extrem în care singurele specii sunt oxihemoglobina conținând (4 molecule de O_2) şi hemoglobina:

$$Hb(O_2)_4 \rightleftarrows Hb + 4O_2 \qquad (6)$$

$$K = \frac{[Hb]\cdot[O_2]^4}{[Hb(O_2)_4]} \qquad (7) \quad \Rightarrow \gamma = \frac{(p_{O_2})^4}{(p_{O_2})^4+(p_{50})^4} \qquad (8)$$

Graficul ecuației (8) conduce la o sinusoidală:

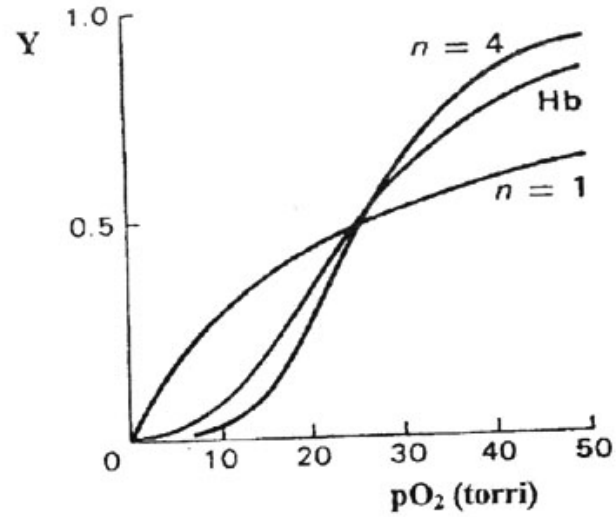


Figura 20. Curba saturării în oxigen a hemoglobinei

- pentru n=1 legătura nu este strânsă

- pentru n=4 legătura Hb-O_2 este foarte strânsă

Hill a arătat că curba obținută din datele experimentale ale legării O_2 de hemoglobină corespund ecuației pentru echilibrul ipotetic:

$$Hb(O_2)_n \rightleftarrows Hb + nO_2 \qquad (9)$$

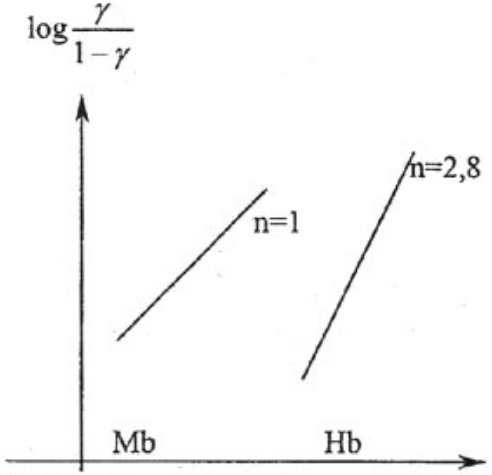
pentru care $$\gamma = \frac{(p_{O_2})^n}{(p_{O_2})^n+(p_{50})^n} \qquad (10)$$

$$\Rightarrow \frac{\gamma}{1-\gamma} = \left(\frac{p_{O_2}}{p_{50}}\right)^n \qquad (11)$$

Această ecuaţie arată că raportul de (γ/1 - γ) (oxihem la deoxihem) este egal cu raportul $(p_{O_2} / p_{50})^n$.

Logaritmând ecuaţia (11) $\Rightarrow \log\frac{\gamma}{1-\gamma} = n \log p_{50}$ (12)

Graficul $\log \frac{\gamma}{1-\gamma}$ = fc ($\log P_{O_2}$) este o dreaptă care are înclinaţii diferite în funcţie de valoarea lui *n*. Această reprezentare este numită *Panta lui Hill*, iar valoarea lui *n* pentru care $\gamma = 0,5$ se numeşte *coeficient de înclinaţie.*



n=1 pentru mioglobină arată că moleculele de O_2 se leagă independent unele de altele (cum rezultă şi din ecuaţia (1);

n=2,8 pentru hemoglobină demonstrează că legătura O_2 cu hemoglobina este foarte strânsă.

Legătura cu un hem favorizează legarea O_2 cu alţi hemi din acelaşi tetramer. Cu alte cuvinte există o strânsă legătură între grupările de hem a unei molecule de hemoglobină. De aceea transportul O_2 de către hemoglobină este numit uneori *interacţiune hem-hem.*

Legătura strânsă a O_2 de hemoglobină face ca aceasta să fie un transportor foarte eficient al oxigenului. Saturarea hemoglobinei în O_2 se modifică rapid în funcţie de schimbarea presiunii parţiale a O_2 (p_{O2}).

De exemplu dacă:

p_{O2} =100 torri în alveolele pulmonare
p_{O2}= 20 torri în muşchi
p_{50} =30 torri
n=2,8
} ⇒

$\gamma = 0,97$ în alveolele pulmonare şi γ =0,25 în capilarele musculare

$\Rightarrow O_2$ livrat va fi proporţional cu $\Delta\gamma = 0,97 - 0,25 = 0,72$

Făcând acelaşi calcul pentru un transportor de O_2 pentru care:

p_{50} = 30 torri şi n=1 (legătura nu este aşa strânsă)

$$\Rightarrow \gamma_{alveolar} = 0,77 şi \gamma_{muschi} = 0,41 \Rightarrow \Delta\gamma = 0,36$$

H^+ şi CO_2 favorizează eliberarea O_2 (efectul Bohr)

În cazul mioglobinei legarea oxigenului nu este influenţată într-un domeniu larg de pH; de asemenea, nici CO_2-ul nu are un efect apreciabil asupra legării O_2 de mioglobină.

În hemoglobină însă, aciditatea favorizează eliberarea oxigenului. O scădere a valorii pH-ului determină o scădere a afinităţii hemoglobinei pentru oxigen.

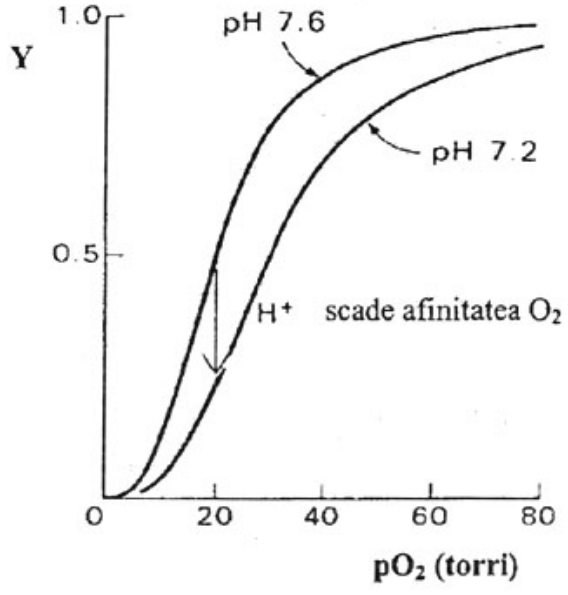


Figura 21. Influenţa pH-ului asupra afinităţii hemoglobinei pentru oxigen

De asemenea, creşterea concentraţiei de CO_2 (la pH=ct) micşorează afinitatea O_2 la hemoglobină. În timpul contracţiilor musculare se produce mai mult CO_2 şi ioni de hidrogen. Prezenţa unor concentraţii mai mari de CO_2 şi H^+ în capilarele muşchilor favorizează eliberarea O_2 din oxihemoglobină. Acest mecanism a fost descoperit de Christian Bohr în 1904.

Efectul reciproc se întâlneşte în capilarele alveolare ale plămânilor. Concentraţia mare de O_2 din plămâni descarcă acolo CO_2 şi H^+. Aceste verigi sunt cunoscute sub numele de ***efectul Bohr***.

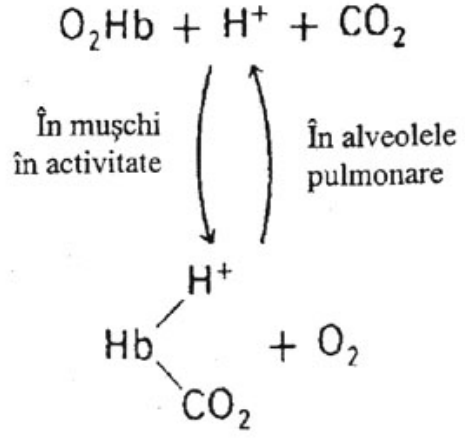
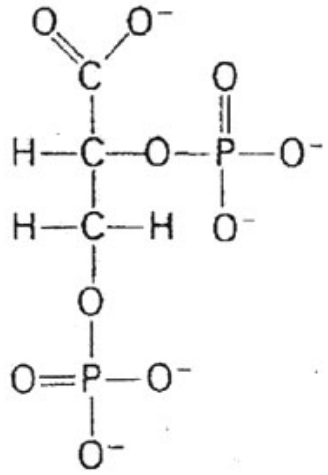


Figura 22. Schema efectului Bohr

Afinitatea O_2 pentru hemoglobină în celulele roşii este influenţată şi de 2,3-difosglicerina (DPG):



DPG este prezentată în celulele roşii ale sângelui uman în aproape aceeaşi concentraţie molară ca şi hemoglobina.

În lipsa DPG, p_{50} a hemoglobinei este 1 torr ca cea a mioglobinei iar în prezenţa DPG, p_{50} ajunge la 26 torri.

Astfel, DPG reduce afinitatea oxigenului la hemoglobină de 26 de ori. Ea are o mare importanţă fiziologică.

În absenţa ei, hemoglobina ar descărca mai puţin O_2 la trecerea prin capilare deoarece Po_2 este $\approx$26 torri.

Legarea O_2 şi DPG la hemoglobină este exclusiv reciprocă. Oxigenarea hemoglobinei în prezenţa DPG poate fi reprezentată prin ecuaţia:

$$Hb - DPG + 4O_2 \rightleftharpoons Mb(O_2)_4 + DPG$$

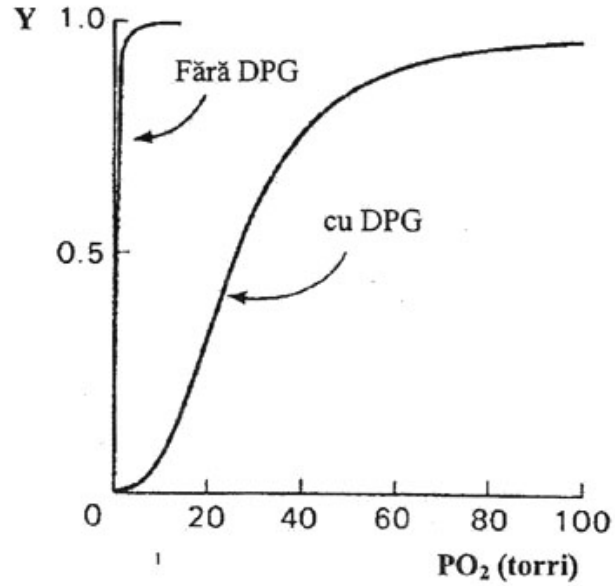


Figura 23. Difosfoglicerina scade afinitatea oxigenului la Hb

În concluzie:

1. Hemoglobina şi mioglobina leagă un număr diferit de molecule de oxigen ca urmare a structurilor lor diferite:

- hemoglobina care conţine patru lanţuri polipeptidice (fiecare cu câte o unitate hem) poate lega patru moli de oxigen;
- mioglobina, care conţine un singur lanţ polipeptidic, poate lega doar un mol de oxigen.

2. Legarea oxigenului este influenţată de:

- presiunea parţială a oxigenului astfel încât la nivelul alveolelor pulmonare (unde p_2= 100 torri) afinitatea O_2 este mai mare pentru hemoglobină şi acesta se saturează în oxigen. Ulterior, oxigenul este transportat prin sânge la nivelul muşchilor unde p_2= 20 torri, presiune la care afinitatea oxigenului este mai mare pentru mioglobină care il preia şi il utilizează pentru obţinerea de energie;
- p_{50} (presiunea parţială a oxigenului la care jumătate din numărul locurilor goale din proteină sunt ocuapte cu legături cu oxigenul) este un torr pentru mioglobină şi 26 de torri pentru hemoglobină;
- prezenţa ionilor de hidrogen şi a CO_2. La nivelul capilarelor musculare se produc cantităţi mari de ioni de hidrogen şi CO_2 care micşorează afinitatea oxigenului pentru hemoglobină. De aceea, hemoglobina descarcă oxigen în muşchi şi se încarcă cu H^+ şi CO_2(efectul Bohr);
- difosfoglicerina reduce afinitatea oxigenului la hemoglobină de 26 de ori.

III.4.3. Hemocianina

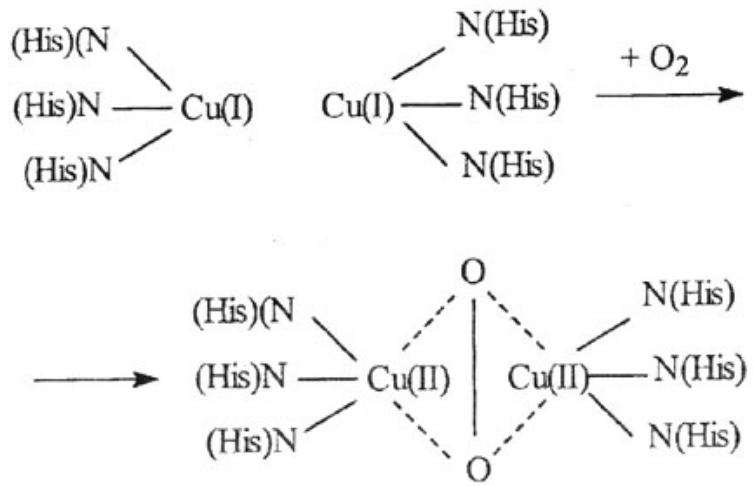
Este o proteină care fixează reversibil oxigenul fiind utilizată de către moluşte; ea nu conţine unităţi hem fiind un sistem

cupru – proteină . Faţă de hemoglobină şi hemeritrină ea conţine o unitate dinucleară de cupru cu doi ioni de *Cu(I)*. Centrul activ conţine doi ioni de *Cu(I)* legaţi fiecare de trei resturi de histidină

Legarea moleculei de oxigen în hemocianină se realizează în punte între cei doi atomi de cupru:

$$I.\ Cu-O-Cu \quad (\|\ O) \qquad sau \qquad II.\ Cu-O=O-Cu$$

Modelul pentru reacţia de fixare a oxigenului în hemocianină cu formarea oxihemocianinei propus de Kitajima este următorul:



Astfel, dioxigenul este redus la gruparea peroxo şi va forma o punte între cei doi atomi de cupru care sunt menţinuţi la starea de oxidare *II.*

În ciuda prezenţei ionilor de *Cu(II)* acest sistem nu dă semnal RES datorită prezenţei unui cuplaj antiferomagnetic. În spectrul electronic, apare o bandă de absorbţie datorată transferului de sarcină de la ionul peroxo spre ionul *Cu(II).*

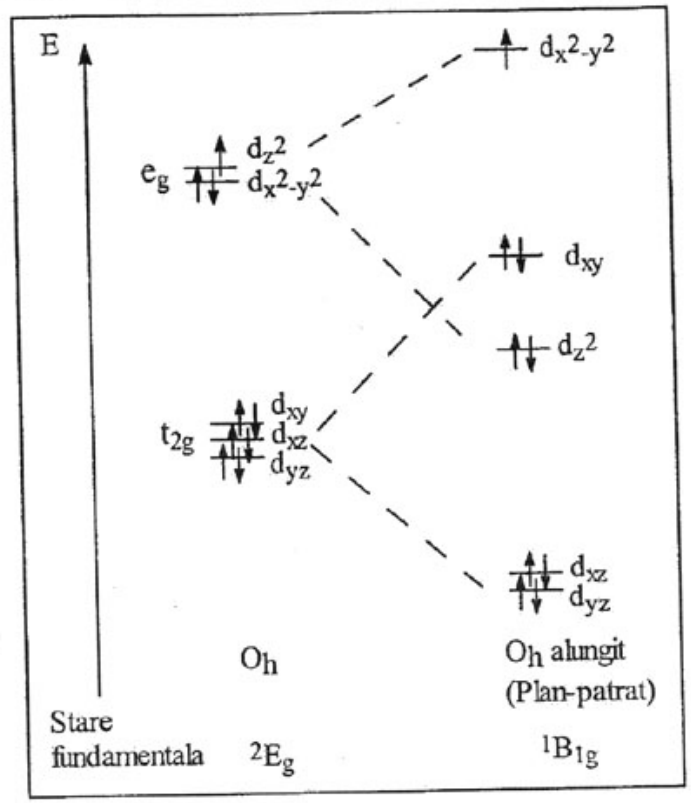
Caracteristici spectrale, structurale şi funcţionale ale sistemelor Cu – proteină (Cu – enzimă)

Participarea metal–enzimelor în procesele redox este asigurată de posibilitatea metalului respectiv de a avea mai multe stări de oxidare labile. De obicei, metalul este redus de un substrat organic, după care, prin reacţie cu oxigenul, revine la starea de valenţă iniţială.

Aceasta face ca majoritatea metal–enzimelor să fie oxidoreductaze dependente de oxigen. Dintre metalele tranziţionale bivalente, cuprul formează cu mai mulţi liganzi complecşi foarte stabili.

În cupru–proteine se disting trei forme ale cuprului, două paramagnetice (de tip I şi II) şi una diamagnetică.

În domeniul albastru al spectrului vizibil (480 mm) cupru–proteinele prezintă o absorbţie intensă datorată configuraţiei d^9 a ionului Cu^{2+} plasat într-un câmp octaedric alungit:



Într-un astfel de câmp, din schema nivelelor de energie rezultă că sunt posibile 3 benzi de absorbţie, corespunzătoare tranziţiilor de pe cele 3 nivele *d* ocupate pe orbitalul semiocupat d_{x2-y2}. De obicei, se observă numai 2 benzi deoarece una este deplasată în IR apropiat. Mai pot apărea, de asemenea, benzi de transfer de sarcină, în special la complecşii *Cu(II)* cu liganzi uşor oxidabili. Spectrul RES este caracterizat de factorii g_{II} şi $g_{\perp}$ ($g_{II} > g_{\perp}$).

Proteinele albastre au deci, două benzi de absorbţie în vizibil şi una în I.R. apropiat (peste 750 mm) lungimea de undă a acestora mărindu-se odată cu creşterea numărului de atomi de cupru.

Activitatea enzimatică a proteinelor de cupru "albastru" se datoreşte modificării stării de oxidării a cuprului din moleculă în conformitate cu schema următoare:

$$PCu^{2+} + SH_2 \rightarrow PCu^{+} + (S\,H_2)^{+} \rightarrow \text{produşi finali}$$

$$PCu^{+} + {}^1/_4O_2 + H^{+} \rightarrow PCu^{2+} + {}^1/_2H_2O$$

P proteină; S substrat

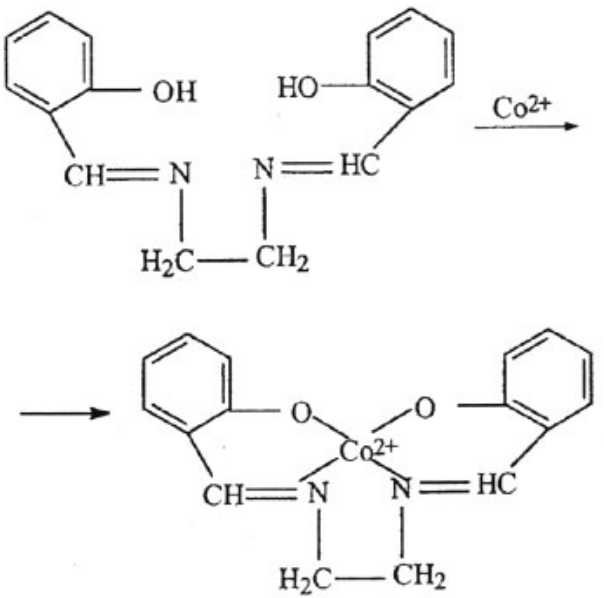
Reoxidarea Cu^{+} la Cu^{2+} este o fază comună proceselor enzimatice indiferent de substrat. Cupru–proteinele care conţin "cupru albastru" au o proprietate rar întâlnită şi anume aceea de a reduce oxigenul la apă (celelalte metal–enzime catalizează reducerea O_2 la H_2O_2). În general, numai cupru–enzimele cu mai mult de 4 atomi de *Cu* în moleculă reduc oxigenul la apă, iar celelalte la H_2O_2.

III.4.4. Modele pentru transportorii de oxigen

1. Unii complecşii ai Co(II) cu bis (salicilaldehidă) etilendiamină (salen) sau cu liganzi înrudiţi sunt transportori eficienţi de oxigen, atât în stare solidă cât şi în soluţii cu anumiţi solvenţi.

Se pot formula 2 tipuri de modele:

Tip I **:** Complecşi înrudiţi cu Co – salen (salen = baza Schiff formată prin condensarea a 2 moli de salicilaldehidă cu etilendiamina:



Din studii cu raze X s-a constatat că moleculele au o structură plan – pătrată. De asemenea, s-a putut constata existenţa a două specii:

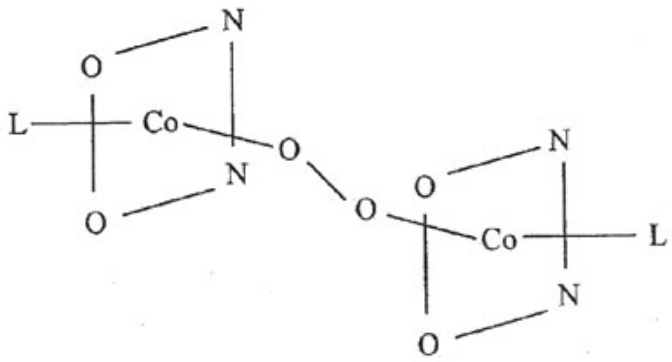
- monomer: *Co-salen*
- dimer: *[Co - salen]$_2$*

În monomer *Co(II)* este tetracoordinat iar stereochimia este plan – pătrată. În prezenţa oxigenului rezultă forma oxigenată cu oxigenul aranjat în punte.

În dimerul *[Co - salen]₂* atomii de cobalt sunt pentacoordinați, cea de-a cincea poziție de coordinare fiind ocupată de un atom de oxigen aparținând celeilalte molecule din dimer. De aceea, dimerul este indiferent la prezența oxigenului.

Deci monomerul poate absorbi oxigenul în timp ce dimerul, din motive sterice, nu o poate face. Complecşi de acest tip absorb *½ mol O_2 / 1 mol complex.*

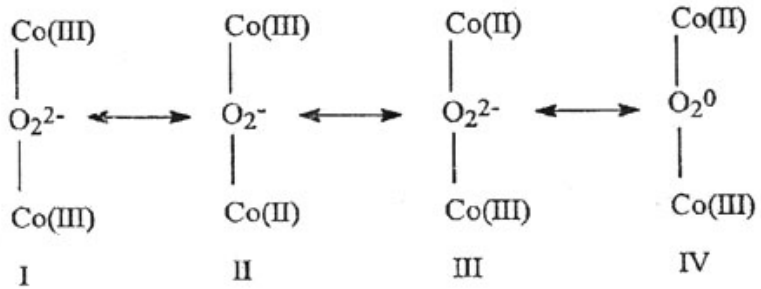
Unii complecşi ai Co(II) transportori de oxigen, cu structură dimeră sunt slab paramagnetici fiind formulați ca aducți binucleari cu punte superoxo ($-O_2^-$), gruparea *Co – O – O - Co* fiind aproape coplanară. În schimb, alții sunt diamagnetici, cu punte peroxo (O_2^{2-}) dar în acest caz gruparea *Co - O – O - Co* nu este coplanară.



Determinându-se lungimea legăturii O – O din punte, s-a constatat că este mai mică (1,35 Å) decât aceea a legăturii peroxidice (1,48 Å).

Prin urmare structura electronică a oxigenului din punte diferă de aceea a grupărilor peroxo şi superoxo din cauza unui transfer de sarcină (parțial) de la Co(II) la oxigen, ceea ce este suficient pentru a asigura oxidarea reversibilă.

De asemenea, s-a încercat explicarea configurației grupării Co – O – O – Co în acești aducți ca structură de rezonanță între mai multe structuri limită:



Structura I are o contribuție mai mare la starea fundamentală, deşi aducții se pot descrie mai bine dacă ei conțin Co(II) şi Co(III), respectiv dacă cobaltul se află într-o stare intermediară între cele două valențe.

Deşi literatura de specialitate este bogată în studii privitoare la structura aducților formați de complecşii transportori de oxigen, natura legăturii M - O nu este încă suficient lămurită. Există trei tipuri de aducți:

$(L)_n\text{-}\ M - O - O - M - (L)_n$ (A)

$(L_n)_n\ M\ (O_2)$ (B)

$(L)_n\ M(O_2)\ M(L)_n$ (C)

Formularea A este caracteristică complecşilor peroxidici, iar legătura M – O este de tip σ. Acest tip de aducţi fixează oxigenul ireversibil (lungimea legăturii O – O este de 1,41 Å).

Formularea (B) este caracteristică aducţilor în care oxigenul este coordinat la un singur ion metalic, distanţa O – O variind între 1,30 Å şi 1,66 Å. În acest caz fixarea O_2 poate fi ireversibilă sau reversibilă:

- fixarea ireversibilă dacă O_2 este legat în punte iar legătura *M - O* este de tip σ (a);

- fixare reversibilă cu legătură *M - O* de tip π (b).

a. b.

O astfel de legătură (cazul b) a fost propusă pentru fixarea O_2 de către hemoglobină în tipul formării oxihemoglobinei.

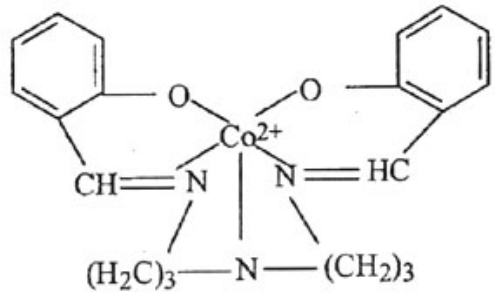
Formularea (C) este caracteristică aducţilor complecşilor binucleari, în care fixarea O_2 este reversibilă dar, în acest caz, nu există date privitoare la natura legăturii $M - O$.

De regulă, legarea reversibilă a O_2 este posibilă dacă legătura $M - O$ este mai slabă şi deci legătura între cei 2 atomi de oxigen mai puternică (distanţa între atomii de oxigen este mai mică decât distanţa între atomii de metal şi oxigen).

Invers, legarea ireversibilă a oxigenului este asociată cu o legătură M – O_2 mai puternică, deci legătura O – O este mai slabă şi distanţa dintre atomii de oxigen mai mare. În cazul fixării reversibile a oxigenului de către unii complecşi transportori de oxigen, prin trecerea unui curent de gaz inert (azot sau argon) prin soluţia aductului, sau prin încălzirea sau agitarea acestor soluţii la presiune scăzută (în vid), oxigenul este eliberat ceea ce nu se întâmplă în cazul aducţilor ireversibili.

Tip II

Acestea includ o bază Schiff formată din saliciladehidă şi o triamină rezultând complecşi pentacoordinaţi ai *Co(II)*.



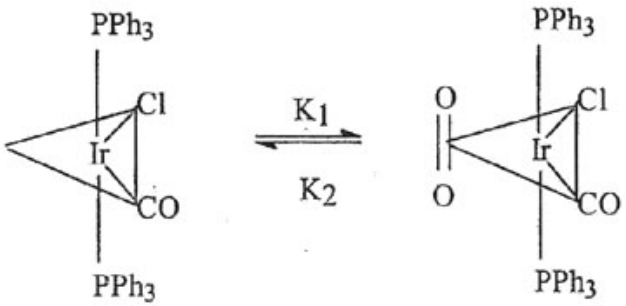
Chelaţii de acest tip absorb *1 mol O_2 / 1 mol complex* şi au o structură piramidal – pătratică.

2.Un alt tip de transportor de oxigen este complexul de iridiu al lui Vaska:

Ir (P Ph_3)$_2$ CO Cl

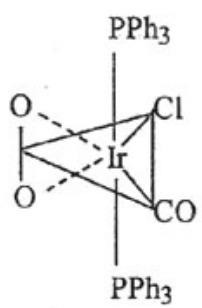
Vaska a propus pentru forma oxigenată o stereochimie bipiramidal trigonală care conţine oxigen legat π .

Adiţia reversibilă a oxigenului se face conform schemei:



Dar studiile cu raze X a rezultat că ambii atomi de oxigen sunt echidistanţi faţă de atomii de *Ir* şi că structura este penta sau hexacoordinată, în funcţie de felul în care *Ir* se leagă de dubla legătură sau de fiecare atom de oxigen în parte.

Deci, există posibilitatea ca oxigenul să se lege în punte formând astfel legături simetrice, iridiul fiind hexacoordinat:



IV. METALOENZIME CATALIZATORI AI PROCESELOR REDOX

Enzimele redox sunt componentele principale ale sistemelor bioenergetice, specializate în obţinerea, stocarea şi transportul unor elemente necesare proceselor de oxido-reducere celulare.

Rolul redox al ionilor metalici în diferite tipuri de oxidări biologice este bine stabilit, activitatea catalitică a metal–proteinelor fiind asociată cu modificarea redox a ionului de metal tranziţional . Aceşti activatori pot modifica atât viteza maximă cât şi afinitatea enzimei pentru substrat.

Dintre ionii metalici, cei mai eficienţi sunt situaţi la începutul sistemului periodic *(Z = 11 – 55)* deoarece, având un volum mic, nu apar impedimente sterice la fixarea lor.

Procesele de oxidoreducere biologice cuprind:

a) transferuri electronice pure la oxigen sau la alte specii ce pot fi socotite acceptori de electroni, realizate de cupruenzime şi hemoenzime;

b) transferuri reversibile de atomi de hidrogen în urma cărora rezultă H_2O sau H_2O_2 şi specia oxidată;

c) încorporarea unui atom de oxigen sau a unei grupe hidroxil în specia oxidată.

Energia rezultată din aceste procese oxidative poate fi utilizată la producerea de *ATP* care, prin hidroliză, oferă energie

pentru multe procese de sinteză sau poate fi folosită în alte procese biologice ca de exemplu contracția mușchilor.

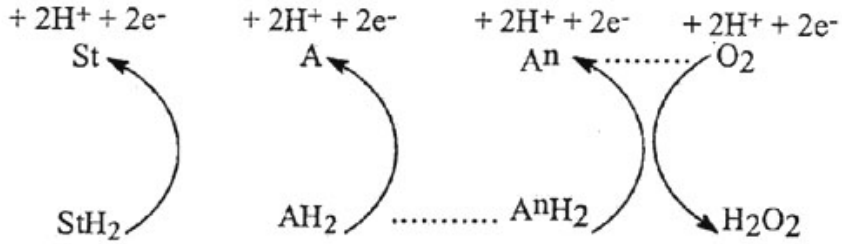
Cea mai mare parte a reacțiilor redox din organism poate fi reprezentată cu ajutorul următoarelor reacții simplificate:

$$2StH_2 + O_2 \rightarrow 2St + 2H_2O$$

$$StH_2 + O_2 \rightarrow 2St + H_2O_2$$

unde St = forma oxidată a substratului

StH_2 = forma redusă a substratului



Cele două reacții decurg în mod normal foarte încet conform unui mecanism în mai multe etape cu participarea metaloenzimei în etapele intermediare.

Semnul săgeții, dacă este îndreptat în sus semnifică reacția de oxidare, iar dacă este îndreptat în jos de reducere. Acest lanț poate fi scris ca o sumă a unor procese redox simple de tipul:

$$StH_2 \rightarrow St + 2H^+ + 2e^-$$

$$A + 2H^+ + 2e^- \rightarrow AH_2$$

.....

$$A^n H_2 \rightarrow A^n + 2H^+ + 2e^-$$

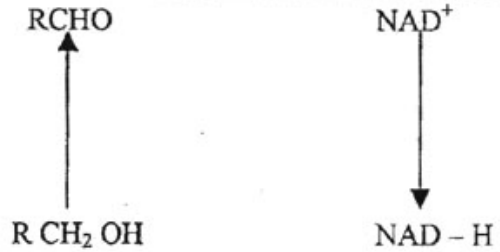
$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$$

La începutul lanțului redox se află un cuplu de substanțe cu potențial redox destul de mic, iar la sfârșitul lanțului potențialul redox al cuplului este mai ridicat (de exemplu potențialul redox pentru cuplul RCHO/RCOH este + 0,2V iar pentru cuplul O_2/H_2O_2 este 0,3V).

Secvența prezentată, formată din mai multe etape, poate fi considerată și ca o secvență cu transfer de electroni sau protoni. Accelerarea acestor procese se face prin participarea a numeroase enzime, cea mai mare parte fiind din grupa metal-proteinelor. În calitate de coenzime (substanțe cu moleculă mică ce reacționează reversibil cu proteina enzimei) în procesele redox funcționează nu numai ionii metalici sau complecșii lor ci și unele substanțe organice (de exemplu nicotinamida NAD).

Mecanismul de acțiune al centrilor activi în metal-proteine nu este complet elucidat. În unele cazuri el se reduce la formarea complexului metalic cu diferiți liganzi care au o orientare și o polarizare corespunzătoare moleculelor substratului.

Acest mecanism are loc în timpul acțiunii enzimelor redox de tip dehidrogeneze care accelerează brusc procesul de eliminare a anionului hidrură H^- de la alcooli, oxiacizi și alți reducători. În acest caz are loc un proces simplu de biocataliză, adică accelerarea reacției de oxido–reducere într-o singură etapă de o enzimă care conține zinc:



Zn^{2+} - proteină

Un rol important în procesele vieții îl joacă enzimele care conțin fier: peroxidaza și catalaza.

Peroxidaza catalizează reacția de oxidare a diferitelor substraturi de către peroxidul de hidrogen:

$$StH_2 + H_2O_2 \xrightarrow{peroxidază} St + 2H_2O$$

Catalaza accelerează procesul de descompunere al peroxidului de hidrogen cu degajare de oxigen molecular:

$$H_2O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{catalază} 2H_2O + O_2$$

Structura peroxidazei este asemănătoare cu cea a mioglobinei, dar mărimea potențialului redox diferă suficient de mult.

Catalaza, al cărei rol fiziologic nu este complet determinat, diferă structural destul de mult față de alte hemoproteine. Gradul de oxidare al fierului în catalază este +3. El nu se reduce nici chiar cu reducători puternici, formând un complex stabil cu anionul hidroperoxid (*OOH*).

Catalaza este o proteină cu greutate moleculară 240000, formată din patru unități hemice și patru lanțuri polipeptidice,

fiecare din aproximativ 500 aminoacizi. Enzima catalizează descompunerea apei oxigenate. În prezența unor concentrații mici de H_2O_2 (sub 10^{-6}M) și a unor donori de oxigen, enzima acționează ca peroxidază:

$$RCH_2OH + H_2O_2 = RCHO + 2H_2O$$

Enzima este răspândită în diferite specii și țesuturi (cel mai concentrat țesut este ficatul ca și eritrocitele).

În țesuturi activitatea enzimei este de natură peroxidazică, fiind cuplată cu enzimele producătoare de apă oxigenată. În hematii, enzima are rolul de a proteja hemoglobina de acțiunea oxidantă a apei oxigenate, a unor medicamente producătoare de peroxizi sau a radicalilor liberi formați prin iradiere cu raze X. Un fapt interesant de remarcat este distribuția variabilă a catalazei în eritrocitele de la diferite specii: la extreme se află eritrocitul uman și eritrocitul de rață (cu un conținut de 100 ori mai mic decât la om).

Mecanismul de acțiune al catalazei este atipic, urmând reacțiile de mai jos:

$$Cat(OH)_4 + H_2O_2 \rightleftharpoons Cat(OH)_3OOH(I) + H_2O$$

$$Cat(OH)_3OOH(I) + H_2O_2 \rightleftharpoons Cat(OH)_4 + H_2O + O_2$$

$$Cat(OH)_3OOH(I) + C_2H_5OH \rightleftharpoons Cat(OH)_4 + H_2O + CH_3OH$$

$$Cat(OH)_3OOH(I) \rightleftharpoons Cat(OH)_4OOH(II)$$

Reacția este demarată prin combinarea moleculei de catalază cu o moleculă de apă oxigenată formându-se astfel complexul primar enzimă-substrat (compusul I).

Acest compus reacționează în continuare cu un donor de hidrogen, formându-se complexul ternar. Bivalența funcțională a enzimei de tip catalazic sau peroxidazic este rezultatul competiției între diferiții donori de hidrogen (inclusiv apa oxigenată) pentru compusul I. Astfel, la concentrații mari de H_2O_2 aceasta acționează atât ca substrat pentru formarea complexului I cât și ca donor de hidrogen. La concentrații mici de H_2O_2 este folosită exclusiv pentru formarea compusului I. La concentrații mari de H_2O_2 are loc o inactivare rapidă a enzimei prin transformarea sa în compusul II. Acest lucru are o consecință practică importantă prin aceea că în determinarea activității enzimei, concentrația de H_2O_2 și durata incubării joacă un rol extrem de important.

Mecanismul participării componentei metalice în acțiunea catalazei este controversat și este puțin probabil să aibă loc printr-un ciclu de transformări a Fe(II) la Fe(III). În orice caz compusul I poate fi reprezentat ca $[FeOOH]^{2+}$, un complex peroxidic al Fe(III). Formarea acestu complex are loc cu schimbarea susceptibilității magnetice corespunzătoare scăderii numărului de electroni impari de la 5 la 3.

Peroxidazele au de asemenea structură heminică (sau în unele cazuri flavinică). Una din cele mai cunoscute este peroxidaza din hrean, proteină cu un potențial redox coborât (- 170 mV) și care, din punct de vedere spectroscopic, se aseamănă cu mioglobina. În

prezența H_2O_2 peroxidaza formează un compus de culoare verde în care fierul heminic are valența III.

Printr-o descompunere lentă a acestui produs, în absența substratului, apare un compus roșu. Din spectroscopia Mössbauer rezultă că, în ambele cazuri, fierul este sub formă de Fe(IV), deși în compuși de asemenea factură este dificil de stabilit gradul de oxidare a metalului deoarece prezența echivalenților oxidanți poate fi asociată și cu alte grupe. Complexul verde al peroxidazei este particular și din punct de vedere spectroscopic, ceea ce complică interpretarea stării de valență a fierului în complexul enzimă-substrat.

Toate aceste fapte au determinat elaborarea unor modele neenzimatice care să explice mecanismul de acțiune al celor două enzime. Se știe că atât complecșii fierului cât și cei ai cuprului catalizează descompunerea apei oxigenate. Acești complecși vor acționa doar în cazul în care posedă centrii donori disponibili pentru coordinarea H_2O_2 sau HO_2^- astfel încât cataliza să aibă loc în interiorul sferei de coordinare a metalului unde metalul mediază transferuri electronice de la gruparea oxidabilă la peroxid.

Proteinele care conțin cupru fac parte din metaloproteinele cele mai puțin studiate. A fost determinat faptul că ionii de cupru sunt stâns legați și eliminarea lor este de obicei un proces ireversibil.

Proteinele care conțin 1 atom de Cu / 1 mol de proteină pot fi de diferite tipuri:

1) albastre, ce conţin Cu^{2+} şi care se caracterizează prin parametrii *RPE* $g_{11}=2,1$ şi $g_{\perp}=2,2-2,3$. Această grupă de proteine ia parte la procesul de transfer de electroni;
2) roz, care conţin tot Cu^{2+} şi sunt caracterizate de o absorbţie destul de intensă;
3) metaloproteinele care conţin Cu^{+1} care reacţionează uşor numai cu oxigenul şi care transmit acestei molecule electroni.

V. METALOENZIME CATALIZATORI AI PROCESELOR HIDROLITICE

În timpul desfăşurării proceselor hidrolitice, în organismele vii, nu are loc transfer de electroni cu modificarea gradului de oxidare a atomilor, respectiv ionilor substratului. Acesta este motivul pentru care metaloenzimele care catalizează acest tip de reacţii include în structura lor biometale care se caracterizează printr-un grad de oxidare constant: Ca^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+} şi mai rar Mn^{2+}.

Cel mai simplu proces care este catalizat de aceste metaloenzime este cel de transformare a dioxidului de carbon (CO_2) în ionul carbonat acid (HCO_3^-) sau în H_2CO_3:

$$CO_2 + HO^- \rightleftharpoons HCO_3^-$$
$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

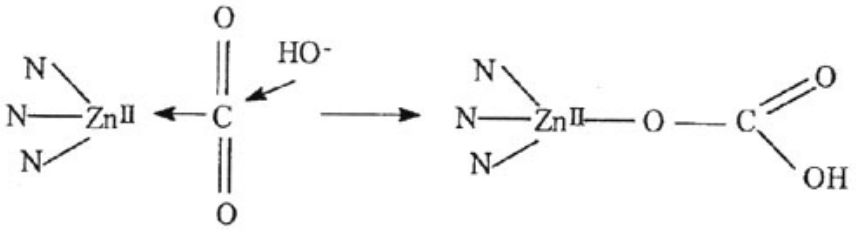
Aceste reacţii pot decurge şi necatalizate, cu viteză mică, dar condiţiile în care au loc procesele vieţii necesită accelarea lor.

Accelerarea acestei reacţii în organismele vii se face prin catalizarea ei cu o enzimă care conţine Zn^{2+} şi se numeşte carboanhidrază. Această enzimă are o masă moleculară de ordinul 30.000, iar în structura ei intră 259 returi de aminoacid . Forma macromoleculei este aproximativ elipsoidală. În macromolecula enzimei se află un gol destul de adînc în interiorul căruia se găseşte ionul Zn^{2+} legat de trei resturi de histidină prin grupările imidazol ale acesteia. Al patrulea centru de coordinare este ocupat posibil de o moleculă de apă (printr-o pereche de e^- neparticipanţi ai atomului de oxigen) sau de către ionul hidroxil (HO^-) .

Ionul de Zn^{2+} poate fi substituit în carboanhidrază de Ca^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}, Fe^{2+}, Pb^{2+}, Mg^{2+}şi Ca^{2+}. La substituirea Zn^{2+} cu Co^{2+} activitatea catalitică a enzimei creşte.

Deoarece agenţii de chelatare nu inhibă activitatea anhidrazei carbonice, se presupune că molecula de bioxid de carbon nu se leagă direct de atomul de zinc, supoziţie întărită şi de faptul că spectrul diferenţial în infraroşu al enzimei în prezenţa şi în absenţa CO_2 arată o mică scădere (2,5 cm^{-1}) a frecvenţei de vibraţie a CO_2 legat de enzimă. Tot studiile IR au arătat că atât CO_2 cât şi N_2O intră în competiţie pentru centrul activ al enzimei, fără legarea

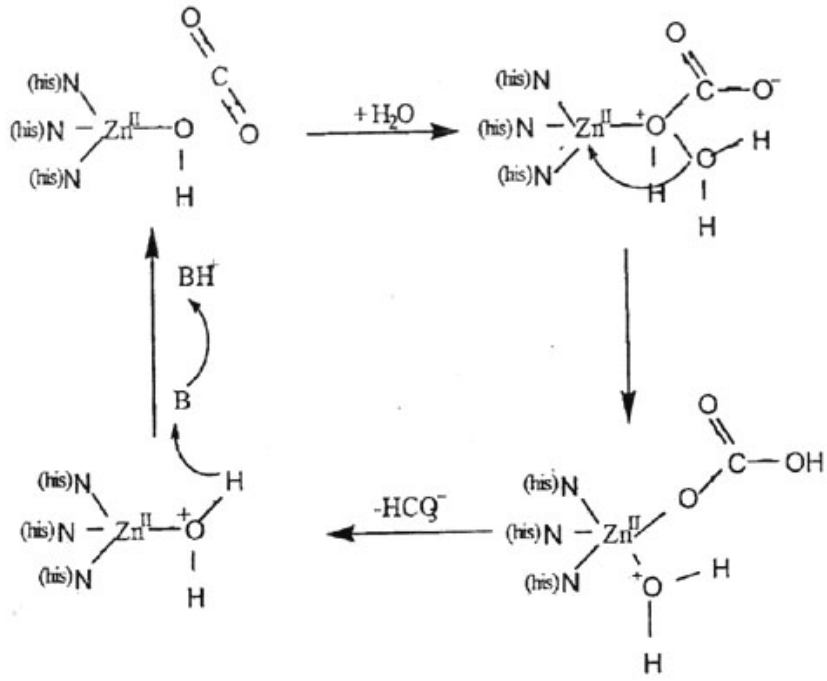
directă la atomul de zinc. Probabil că molecula de CO_2 se leagă la anhidraza carbonică printr-o zonă vecină Zn(II), probabil în a doua sferă de coordinare a ionului metalic, în schimb produsul de reacție HCO_3^- este direct coordinat la zinc.



În prezent, pe baza cercetărilor efectuate s-a demonstrat că mecanismul reacției este următorul:

La intrarea moleculei de CO_2 în golul macromoleculei de enzimă (în centrul activ) aceasta nu se coordinează la ionul metalic. În schimb, anionul HCO_3^-, care se formează în timpul reacțiilor, se coordinează la ionii de Zn^{2+} sau Co^{2+}. Inițial s-a crezut că mecanismul reacției constă în atacul simultan al ionului Zn^{2+} și a grupei HO^- asupra CO_2 – ului.

În prima etapă are loc atacul grupei HO^- asupra moleculei de CO_2 care după transferul unui proton H^+ dă naștere ionului bicarbonat HCO_3^- lăsând o moleculă de apă coordinată la ionul metalic. În etapa a doua are loc eliminarea ionului HCO_3^-.



În ultima etapă o bază B, vecină centrului activ, captează un proton, se transformă în BH^+ și reface grupa HO^- care a fost inițial legată de ionul metalic.

De aici se observă cât de important este rolul metalului dar și cum grupările vecine participă la actul catalitic.

Deși schema de mai sus este relativ simplificată, în linii generale intervenția indirectă a metalului în cataliză este dovedită și prin studii cinetice, folosind inhibitori, la care se adaugă cercetări privind modificările spectrale ale enzimei în care cobaltul înlocuiește zincul. Investigarea spectrului de absorbție al sistemului

Co^{2+}-carboanhidrază arată că ionul de Co^{2+} se află într-o simetrie tetraedrică deformată. Faptul că simetria acestui complex este relativ scăzută este un fenomen obişnuit în compuşii cordinativi naturali implicaţi în procesele vieţii. Se presupune că în enzime ionul metalic formează cu atomii apropiaţi o structură tensionată şi nestabilă, deosebit de reactivă. De aceea metaloenzimele au o activitate catalitică deosebit de mare.

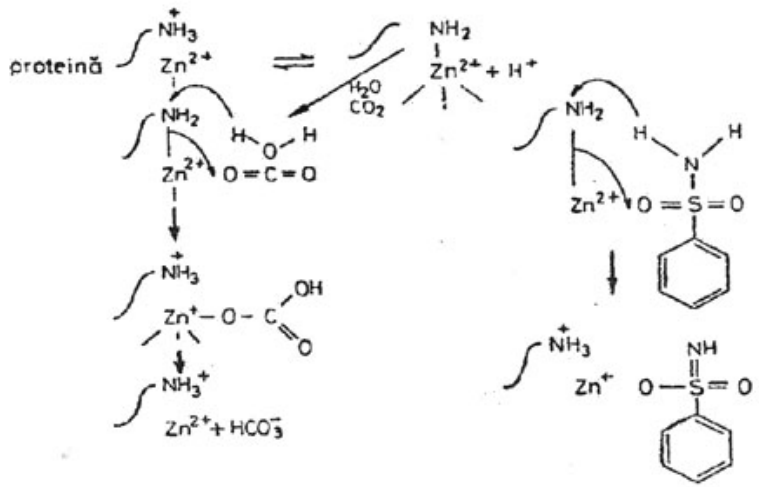
Pentru această enzimă este caracteristic un număr de inhibitori ce sunt capabili să o dezactiveze: anionii N_3^-, CN^-, $S_2O_4^{2-}$ şi molecule de sulfamide $X - SO_2 - NH_2$. Spectrele de absorbţie în domeniul UV – VIS ale enzimei se modifică la adăugarea inhibitorilor. Din aceste modificări se poate trage concluzia că ionul de Co^{2+} îşi menţine coordinarea tetraedrică dar unul din centrii de coordinare este ocupat de inhibitor. Rolul zincului în activitatea anhidrazei carbonice este prezentat în schema de mai jos (în partea dreptă este reprezentat complexul enzimei cu sulfonamida-inhibitor).

Pentru un număr foarte mare de procese biologice, de mare importanţă este reacţia de hidroliză a adenozintrifosfatului (ATP):

$$ATP^{4-} + H_2O \longrightarrow ADP^{3-} + H_2PO_4^-$$

Această reacţie decurge cu degajarea unei cantităţi de energie strict determinată. Reacţia este catalizată de ionii Be^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} în timp ce Ba^{2+} şi Mg^{2+} nu au efect catalitic. Activitatea catalitică a ionilor depinde de pH- ul soluţiei:

- la pH = 5 cea mai mare activitate o au ionii Zn^{2+} şi Cu^{2+};
- la pH = 2 activitatea cea mai amre o au ionii Ca^{2+} şi Mn^{2+}



VI. COMPLECŞI SINTETICI AI METALELOR TRANZIŢIONALE

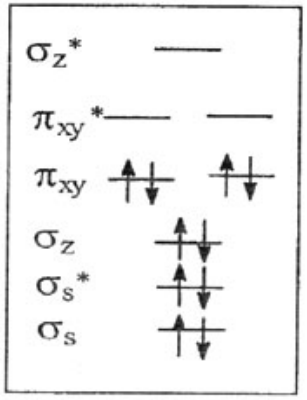
Ionii metalelor tranziţionale sunt implicaţi în numeroase procese ce au loc în organismele vii, mai ales datorită faptului că acţiunea catalitică a enzimelor depinde de prezenţa unor astfel de ioni ca *Fe(II), Cu(II), Zn(II), Mn(II), Mo(II).* Rolul ionilor metalic în activarea enzimelor se explică prin asigurarea unei configuraţii spaţiale a acestora favorabilă formării de chelaţi cu substratul.

Complecşii sintetici transportori de oxigen au fost prezentaţi la capitolul "Metaloenzime pentru transportul şi stocarea oxigenului".

În continuare, vom discuta despre compleşi fixatori de azot şi despre alţi chelaţi utilizaţi ca modele.

VI.1. Complecşi fixatori de azot

Problema fixării azotului molecular de către sisteme complexe macrociclice naturale, ca şi conversia acestuia în amoniac, substanţă primară deosebit de importantă în formarea proteinelor, este incomplet lămurită. Absorbţia azotului de către bacteriile azotogene se pune în legătură cu transformarea sa în amoniac, pe seama energiei eliberate în procesele de oxidare a substanţelor organice. Molecula de azot este destul de stabilă fiind alcătuită din doi atomi de azot legaţi prin triplă legătură. Diagrama energetică a O. M. penrtu această moleculă este următoarea:



Azotul molecular poate fi fixat de către unii complecşi ai metalelor tranziţionale din grupele VIB şi VIIIB în starea lor de oxidare I sau II cum sunt: *Cr(I), Ru(II), Os(II), Co(II), Fe(II), Ir(I)* sau chiar metale în stare de oxidare zero cum sunt: *Mo, W, Ni, Pt.*

Chimiosorbţia azotului şi reacţia sa cu hidrogenul la suprafaţa unor metale se explică prin formarea intermediară a unor complecşi de tipul $Me - N_2$. Acest proces ar putea fi luat în considerare ca model pentru fixarea biologică a azotului.

Pe de altă parte, azotul molecular coordinat are o reactivitate mai mare decât azotul necoordinat, ceea de s-ar putea explica prin modificarea densităţii de electroni în orbitalii de energie mare rezultaţi în urma coordinării. Aceasta ar corespunde practic unei stări excitate a moleculei de azot.

Primul complex capabil să fixeze azotul, citat în literatură, a fost un complex al Ru(II), al cărui aduct cu azotul este:

$$[Ru(NH_3)_2(N_2)]Cl_2$$

Aducţii de acest fel se obţin fie prin fixarea directă a azotului molecular de către unii complecşi ai metalelor tranziţionale, fie prin reacţia complecşilor cu NH_3. Aducţii cu azot molecular, formaţi de către unii complecşi ai metalelor tranziţionale pot fi:

a) mononucleari : L_nMN_2

b) binucleari : $\begin{cases} (L_nM)(N_2)\ sau: \\ L_nM - {}^2N = N - ML_n \end{cases}$

Spre exemplu, aducţii complecşilor Ru(II) sunt de regulă mononucleari având următoarele formule:

a) $Ru\,[(N_2)\,(NH_3)_5]X_2$ unde $X = Cl^-, Br^-, I^-, BF_4^-, PF_6^-$

b) $[Ru(N_2)Cl_2L_3]$

c) $[Ru(N_2)H_2(PPh)_3]$ } unde $X = Cl^-, Br^-, I^-, BF_4^-, PF_6^-$

d) $[Ru(N_2)(en)_2]X_2$ $L = H_2O;\ NH_3;\ py$

Aceşti aducţi au o stabilitate termică relativ mare în stare solidă; în schimb, în soluţie, azotul este mai labil putând fi înlocuit cu alţi liganzi, deci fixarea azotului este reversibilă în anumite condiţii. Compoziţia acestor aducţi a fost confirmată prin metode fizico–chimice de analiză (inclusiv metode spectroscopice). Sistemele naturale implicate în absorbţia azotului sunt, în general, metaloenzime (nitrogeneza şi hidrogeneza) dar şi transportori de electroni cu potenţial redox foarte mic (feredoxina). Aceasta din urmă este o proteină care conţine fier în formă nehemică, fierul având rol în formarea legăturii cu substratul şi contribuind în acelaşi timp la transferul de electroni.

Nitrogeneza conţine: *Mo, Fe, cisteină şi grupe SH în raport molar = 1:20:20:15* Fixarea enzimatică a azotului se realizează ca urmare a coordinării azotului molecular la cei doi ioni metalici din nitrogeneză (*Fe, Mo*) urmată de reducerea azotului la NH_3. Plecând

de la constatarea că sistemele complexe macrociclice naturale fixatoare de azot conţin *Mo, Fe* şi alţi ioni tranziţionali s-a încercat sintetizarea unor complecşi ai acestor metale capabili să absoarbă azot şi să elimine NH_3 (asemănător modelelor enzimatice).

Astfel, s-a încercat amestecarea unui complex $Mo - N_2$ cu un complex *Fe- ditiolen* (compus de tip feredoxină).

S-a observat însă că numai o mică parte din azotul fixat a fost redus la NH_3.

VI.2. Alţi chelaţi utilizaţi ca modele

În afară de complecşii sintetici cu rol de fixatori de oxigen sau de azot au mai fost studiaţi şi alţi complecşi utilizaţi ca modele pentru reacţiile de transaminare, pentru substanţele cancerigene, pentru studiul proceselor de depozitare, control şi transport al fierului, etc.

Reacţiile de transaminare, deosebit de importante în metabolismul proteic sunt catalizate în organism de enzime şi decurg după următoarea schemă:

$$aminoacid_1 + piridoxal_2 \rightleftharpoons piridoxamină + cetoacid_1$$

$$\underline{cetoacid_2 + piridoxamină \rightleftharpoons piridoxal + aminoacid_2}$$

$$aminoacid_1 + cetoacid_2 \rightleftharpoons aminoacid_2 + cetoacid_1$$

Transaminarea enzimatică este catalizată de o enzimă care conţine piridoxal (vitamina B_6) care, aşa cum rezultă din reacţiile de mai sus, nu se consumă, ci joacă un rol de activator al moleculei de aminoacid, prin formarea cu acesta a unei aldimine (bază Schiff).

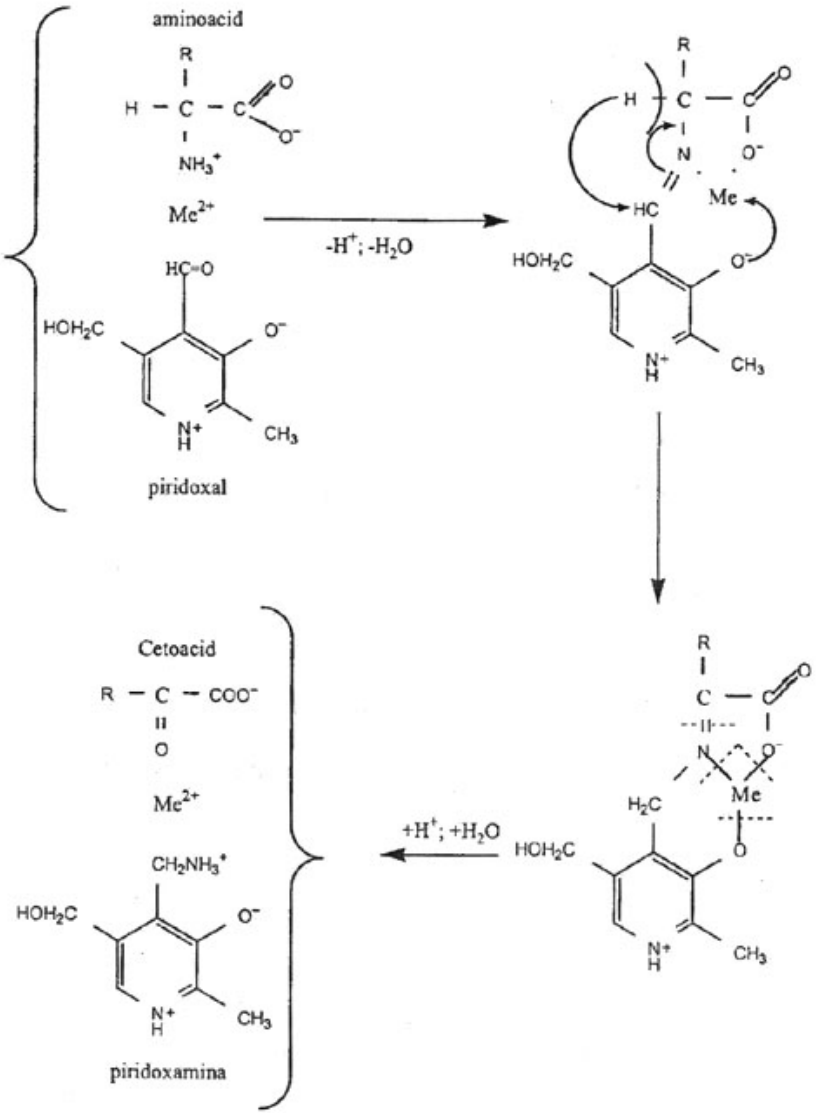
Reacţiile de transminare neenzimatică decurg tot pe baza formării piridoxaminei din aminoacizi şi piridoxal dar sub acţiunea ionilor Fe^{3+} sau Cu^{2+} care joacă rolul enzimei.

Această acţiune se explică prin labilizarea atomului de hidrogen din poziţia α a restului de aminoacid urmată de formarea piridoxaminei conform schemei. Labilizarea atomului de hidrogen din poziţia α a aminoacidului se datoreşte modificării structurii electronice produse în molecula complexului în urma formării chelatului. Baza Schiff formată prin condensarea aminoacidului cu piridoxalul are tendinţa de a se decarboxila pentru ca ulterior produsul de carboxialare să poată hidroliza cu formarea aminei corespunzătoare şi a piridoxalului.

În aceste condiţii, contribuţia ionului metalic este determinată de structura complexului. După unii autori ionul metalic are rolul de inhibitor al reacţiei de decarboxilare. Scăzând tendinţa de carboxilare este evident că transaminarea decurge mai uşor. Au fost sintetizaţi şi complecşi ai *Cu (II)* cu baze Schiff obţinute prin condensarea salicilaldehidei cu amine primare, complecşi activi în procesele de transminare.

S-a întreprins un studiu amplu al acestor complecşi pentru stabilirea caracterului legăturii metal–ligand, ca şi influenţa substituenţilor asupra acesteia. Spre exemplu, substituenţii voluminoşi (izopropil, terţbutil) determină o simetrie tetraedrică a complecşilor spre deosebire de majoritatea complecşilor Cu(II) cu baze Schiff care sunt plan–pătraţi.

Natura legăturii metal–ligand ca şi activitatea bilogică a acestor complecşi sunt afectate atât de chelatare cât şi de modificarea densităţii electronice cauzate de substituenţi.



VII. NEMETALE CARE INTERVIN ÎN PROCESE BIOLOGICE

Nemetalele esenţiale cuprind un grup mult mai eterogen decât metalele tranziţionale. Dintre acestea doi halogeni esenţiali prezintă o specialitate înaltă şi foarte diferită: fluorul şi iodul.

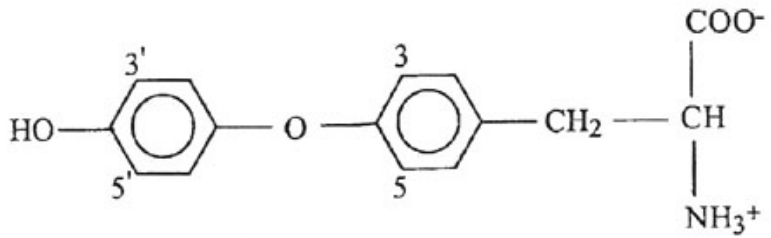
Fluorurile au un efect remarcabil împotriva cariilor dentare. Acest lucru este legat de posibilitatea ionului fluorură de a înlocui gruparea hidroxil (HO^-) în felul acesta stabilizându-se structura oaselor şi a dinţilor. De asemenea, ionul fluorură inhibă puternic enzime ca enolazele şi pirofosfatazele. Una dintre surprizele majore în ceea ce priveşte nemetalele o furnizează **seleniul**, care are o mare toxicitate. Totuşi el face parte din câteva enzime implicate în reacţii esenţiale de oxido-reducere. De exemplu glutationperoxidaza joacă un rol important în protecţia celulelor roşii ale sângelui împotriva efectului peroxidului de hidrogen (H_2O_2) care este generat în interiorul celulei (îl transformă în H_2O) . Se cunoaşte destul de puţin despre celelalte trei nemctale rămase *Si, As şi B.* În cazul *As* s-a demonstrat că intervine în metabolismul anumitor compuşi fiind puţin mai toxic decât *Se.* **Borul** are un rol esenţial penru plante controlând funcţiile membranelor şi biosinteza acizilor nucleici. Rolul său în sistemele plantelor poate fi extrapolat şi la sisteme similare din organismele enzimale.

Tabel 6. Principalele nemetale esențiale

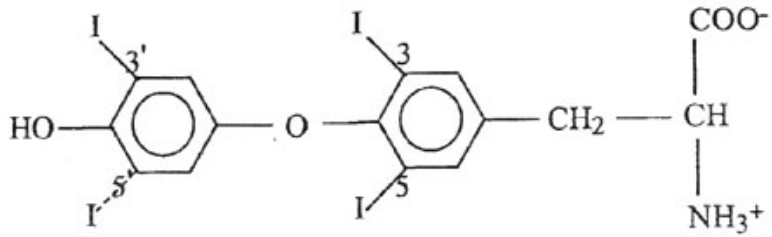
Nemetal	Funcții specifice	Semne de deficiență
Fluor	- structura dinților și oaselor - înlocuiește HO^- - inhibă enolazele și pirofosfortazele	- deficienta de creștere
Iod	- consttituent al hormonilor tiroidicni	- gușă -funcții tiroidiene reduse
Seleniu	- constituent al unor enzime - protecție împotriva oxidării eritrocitelor	- degenerarea hemolitică a pancreasului
Siliciu	- rol structural în țesutul conjunctiv	- deficiențe d ecreștere - deformări ale oaselor
Arsen	- metabolismul compușilor cu metil	- tulburări de creștere și reproducere - funcții ale inimii
Bor	- controlul funcțiilor membranare - biosinteza acizilor nucleici - biosinteza ligninei	- tulburări în fixarea azotului

Iodul și hormonii tiroidieni

Iodul a fost stabilit ca un constituent indispensabil al glandei tiroide încă din anul 1896. El influențează structura și funcționarea hormonului tiroidian și are proprietăți în captarea electronilor. Pentru a înțelege necesitățile minime electronice și structurale pentru activitatea hormonilor tiroidieni s-a presupus că pozițiile *3, 5 și 3'* din tironină au fost ocupate de halogeni (*I* sau *Br*) :



Rolul primar al iodului este de a asigura restricții sterice și de a facilita biosinteza tri și tetraiod tiroinei:



Introducerea unor grupări de dimensiuni similare, metil sau izopropil, în poziția orto față de grupare hidoxil a fenolului este extrem de rară în metabolismul vertebratelor.

Antagonismul elementelor prezente în urme:

Au fost observate numeroase efecte antagonice ale elementelor care acționează în urme:

De exemplu:

- absorbția Zn este perturbată de Fe(II);

- cantități mari de Zn induc o deficiență relativă în Cu;

- Mo şi S antagonează Cu;

- W este antagonic cu Mo în câteva enzime oxidative care necesită Mo.

Există şi cazuri în care elementele interacționează pozitiv: de exemplu, rolul cuprului în promovarea mobilizării fierului în biosinteza hemoglobinei.

Din cele 109 elemente cunoscute, 30 sunt considerate ca fiind esențiale pentru supraviețuirea organismelor vii. 19 dintre ele acționează în urme, iar 12 sunt metale tranziționale (în urme : $10^{-6}{}_{(\mu g)} \rightarrow$).

Se poate considera că au activitate biologică aproape jumătate dintre elementele esențiale în urme, care funcționează în metaloenzime: fier, zinc, cupru, mangan, molibden, cobalt, nichel şi seleniu.

VIII. COMPLECŞI TERAPEUTIC ACTIVI

Intoxicațiile cu metale grele sunt însoțite de unele efecte ale acestora asupra diferitelor organe sau sisteme biologice din organism. Aceste deficiențe se pot corecta printr-o terapie adecvată.

Preparate din aminoacizi

Sunt utilizate sub forma unor compuşi chelați sau nechelați ai unor elemente esențiale: Ca(II), Fe(II), Zn(II), K(I), etc. Sunt implicate în metabolismul proteic aşa cum este Folcisteină-U (care conține L-cisteină, HCl, hexametilentetraamină şi acid folic). Aceasta este utilizată ca donor de grupe – SH, pentru redresarea dereglării enzimelor ce conțin grupe tiol.

De asemenea preparatele cu acid glutamic, care conțin Fe(III), Na(I), K/I(şi Ca(II), au un rol extrem de important în regenerarea ficatului, au implicații în metabolismul vitaminei B_{12}, precum şi în fixarea ionului NH_4^+ a cărui concentrație este crescută în afecțiunile hepatice.

Complecşi de calciu şi aluminiu

Gluconatul de calciu are acțiune de normalizare a permeabilității vasculare, îndeplineşte rol plastic în formarea oaselor, este implicat în metabolismul apei şi în coagularea sângelui. De asemenea, este antiinflamator şi antialergic.

Pantotenatul de calciu este utilizat în procesele inflamatoare ale căilor respiratorii superioare.

Dintre complecşii cu aluminiu se utilizează, în terapie, *acetotartratul de aluminiu* care are acţiune antiinflamatoare şi *aluminodisufatul de potasiu şi de amoniu* care au acţiune antiseptică.

Complecşi cu fier

O importanţă terapeutică deosebită o au chelaţii de Fe(II) cu acid citric, succinic, oleic, fumaric, glicină, cisteină utilizaţi în tratamentul anemiei.

Acţiunea terapeutică a unor medicamente se explică prin capacitatea lor chelatantă. Astfel acţiunea bactericidă şi fungicidă a 8-hidroxichinolinei se explică prin chelatarea unor ioni metalici esenţiali din unele sisteme enzimatice bacteriene. În mod similar se explică şi acţiunea antibiotică a tetraciclinei sau streptomicinei.

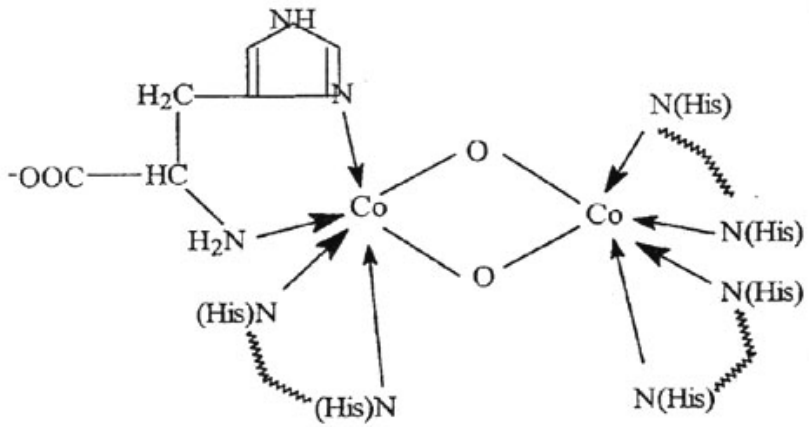
Unii complecşi ai fierului au acţiune stimulatoare asupra sistemului nervos central sau sunt radioprotectoare faţă de radiaţiile UV sau electronice.

Complecşi cu cobalt

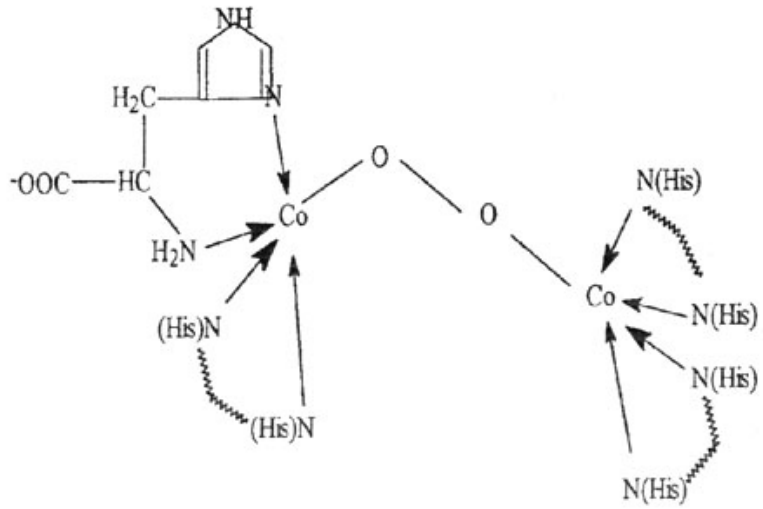
Ionul de Co(II) este component al vitaminei B_{12} care este un chelat al cobaltului cu corina. Vitamina B_{12} are un caracter redox şi de aceea intervine în biosinteza zaharurilor.

În terapia anemiei pe lângă vitamina B_{12} se utilizează şi alţi chelaţi ai Coloane(II) cu zaharide (zaharoză, maltoză, lactoză), aminoacizi (cisteină, histidină), cu acid oleic, glutamic etc.

Structura aductului $[Co(histidină)_2]_2O_2$ este:



sau



Acest complex în doze mici este hipopresor dar, în doze mari poate afecta miocardul.

Complecşi cu argint şi aur

Unii complecşi ai Ag(I) au acţiune dezinfectantă locală fiind utlizaţi în afecţiuni oculare.

Complecşii argintului cu sulfamide au acţiune antiseptică în timp ce complecşii cu cazeina au acţiune antitumorală.

Unii complecşi ai Au(I) şi Au(III) sunt utilizaţi cu succes în terapia lupusului, artritei reumatice sau a unor forme de neoplasm.

Complecşi cu zinc şi cupru

Zincul, microelement esenţial implicat în activitatea unor enzime se găseşte în organism şi în complexul Zn – insulină, hormon cu rol de control şi reglare a metabolismului zaharurilor, proces de mare importanţă în organism. Dintre preparatele cu acţiune antidiabetică sunt importante combinaţiile complexe ale zincului cu aminoacizii.

Se cunosc, de asemenea, şi complecşi ai zincului cu acţiune antitumorală, antiseptică şi antifungică.

Unii complecşi ai Cu(II) manifestă, de asemenea, acţiune antitumorală sau au acţiune antiinflamatorie care se datorează formării unor chelaţi cu aminoacizii şi cu hormonii corticosteroizi. Dintre aceştia cei cu acid antranilic, penicilina-D, lisină au şi

acţiune antireumatică şi antiulceroasă. De asemenea, unii complecşi ai Cu(II) cu azoxiderivaţi prelungesc activitatea adrenalinei, probabil printr-un mecanism de protecţie a acesteia la oxidare (adrenalina se oxidează uşor în prezenţa ionilor metalici necomplexaţi).

Chelaţi metalici cu acţiune carcinostatică şi antivirală

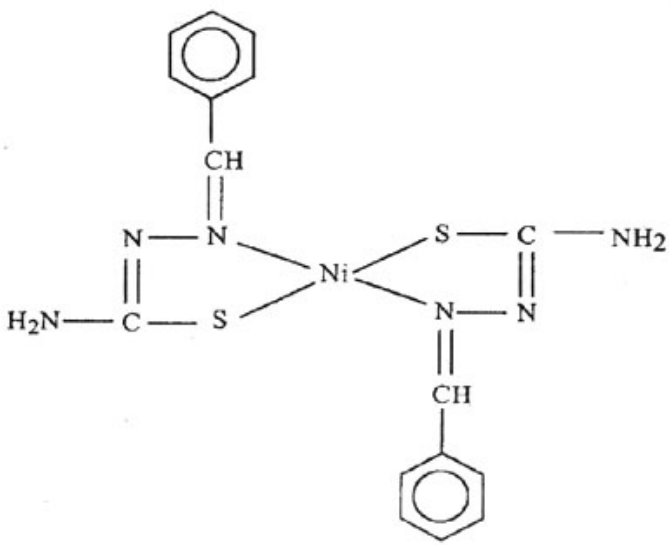
Plecând de la constatarea că sulfatul de cupru (II) produce o inhibiţie semnificativă a vitezei de creştere a tumorilor S_{ISO} a unor carcionoame experimentale, inclusiv cel Ehrlich, cercetări în vitro au arătat că unele oxime prezintă efecte lezante asupra permeabilităţii selective a membranelor celulare tumorale, care cresc în prezenţa sărurilor Cu(II) sau Fe(II). Astfel z – cetoglutaratul de fier(II) sau de Cu(II) este activ în doze de 25 mg/ml în timp ce ligandul liber numai în doze de 100mg/ml. În mod analog metil – glioxima, DMG în doze < 50 mg/kg/zi nu a inhibat tumorile testate, în timp ce chelatul $[Cu(DMG)_2]$ este activ în doze de 5 mg/kg, iar chelaţii corespunzători ai Ni(II), Co(II), Mn(II) sau Hg(II) sunt fără activitate.

Acţiune carcinostatică prezintă şi unii chelaţi metalici ai tiosemicarbazoanelor (TSK). Astfel încă din 1950 a fost semnalată acţiunea carcinostatică a piridin 2- carbaldehidtiosemicarbazona.

Studiul dependeţei activităţii biologice de proprietăţile complexoformatoare a unor tiosemicarbazone N- heterocilclice au

arătat că ele acţionează sub formă tiolică, ca agenţi chelatori tridentaţi, fixând ionii metalic implicaţi în carcinogeneză.

Sinteza şi testarea unei serii de complecşi ai TSK şi derivaţi cu ioni ai metalelor tranziţionale ca Fe(II), Fe(III), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), Co(II), Ag(I) a făcut dovada activităţii lor în carcinostatice; cele mai pronunţate efecte le-a avut Cu(II) –TSK urmat de Zn(II)-TSK, Co(II)-TSK şi Ni(II)-TSK.



[Ni(benzald-TSK) $_2$]

Este interesant de remarcat în ceea ce priveşte activitatea anticanceroasă şi antivirală a unor tiosemicarbazone şi a complecşilor lor metalici, că în majoritatea cazurilor acestea funcţionează ca liganzi multidentaţi şi că efectul de chelatare măreşte atât biodisponibilitatea cât şi efectul terapeutic. Ionii

metalici cei mai favorabili sunt cei din clasa b sau cu caracter intermediar, dat fiind faptul că atomii donori ai ligandului sunt N şi S care conferă complexului liposolubilitate.

Complecşii ai Pt(II)

Activitatea antitumorală a combinaţiilor coordinative ale Pt(II) pare a fi limitată la cele de tipul $[PtA_2X_2]$, fără sarcină electrică şi este caracteristică izomerilor cis.

Stereochimia cis şi trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ cât şi lungimea şi valoarea unghiurilor legăturilor respective au fost stabilite prin metode fizico-chimice de analiză. În cazul izomerilor cis şi trans ai Pt(II), izomerul cis poate să prezinte sau să nu prezinte activitate atitumorală; aceasta nu se întâlneşte însă niciodată la izomerul trans, fără ca cel cis să fie şi el activ.

Combinaţiile coordinative ale Pt(II) cu sarcină electrică sunt inactive, chiar dacă liganzii sunt uşor schimbabili.

Activitatea antitumorală a complecşilor Pt(II), de tipul $[PtA_2X_2]$, depinde de natura liganzilor. Cele mai bune rezultate au fostobţinute cu Cl^- şi Br^-, liganzi anionici monodentaţi, cu capacitate de schimb intermediară şi cu anionii oxalat şi malonat, liganzii carboxilaţi bidentaţi, în ceea ce priveşte natura anionilor, cu molecule de amoniac, şi de diamine ciclice saturate în ceea ce priveşte pe cea a aminelor. Prin urmare cis-diclorodiaminoplatina(II), cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, cunoscută şi sub

denumirea de sarea lui Peyronc, introdusă în terapeutică de către prezintă cea mai ridicată activitate antitumorală.

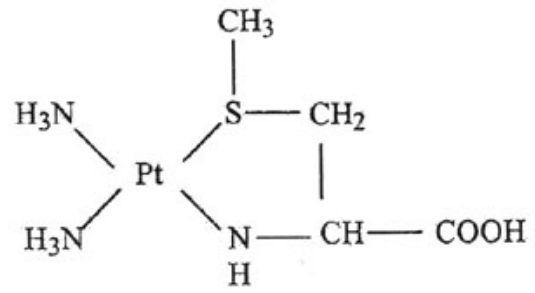
Într-un mediu bogat în cloruri, ca serul fiziologic izotonic, predomină speciile de $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, substituţia ionilor clorură neputând avea loc decât în prezenţa unor liganzi având ca atomi donori sulful. În urma reacţiilor de substituţie, stereochimia combinaţiilor complexe ale Pt(II), nu se modifică.

Ţinând seama de efectul trans, moleculele de amoniac din $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, inerte din punct de vedere cinetic, pot deveni labile numai sub acţiunea unui ligand cu sulf sau al ionului cianură CN^- şi afectează doar labilitatea compuşilor cis.

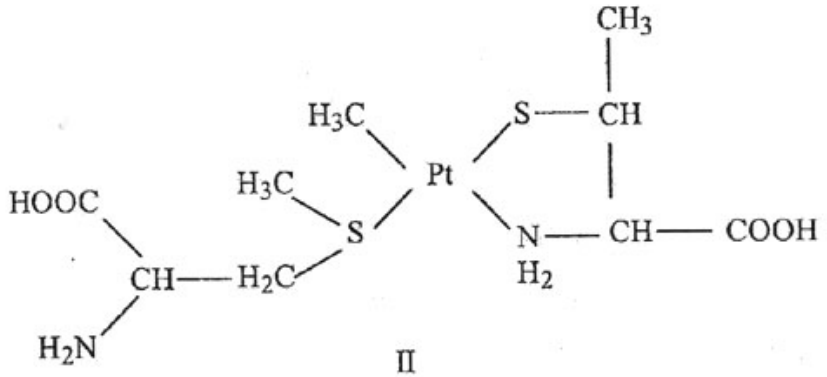
Aşa de exemplu la tratarea trans $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ cu metionină, grupările amino nu sunt afectate deoarce transactivitatea celor doi liganzi este $Cl^- > NH_3$.

În cazul izomerului cis are loc substituirea ambilor ioni Cl^- cu o moleculă de metionină, ligand bidentat, cu formarea compusului I, care la tratare cu o nouă moleculă de metionină formează complexul II, ca urmare a labilizării moleculului de NH_3 din trans de către atomul de sulf al metioninei.

Gruparea amino în trans faţă de gruparea amină a metioninei nu este labilizată.



I



II

O acţiune analoagă de labilizare în trans numai a cis $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ are loc şi sub acţiunea a 6-mercaptopurinei.

În general efectul trans al unui ligand L se manifestă prin creşterea legăturii Pt-X, descreşterea frecvenţei vibraţiei de valenţă, respectiv a tăriei legăturii, pentru ligandul situat în trans faţă de el şi de scăderea pK^4_a.

În complecşii cis şi trans $[Pt(NH_3)_2Cl_4]$, moleculele de amoniac au o labilitate ridicată şi neexplicată; ei sunt uşor reduşi de un potenţial apropiat de zero volţi la cis şi trans $[Pt(II)(NH_3)_2Cl_2]$, reacţie care ar putea constitui o explicaţie a bioactivităţii lor în medii biologice.

În general, pentru ca un complex metalic să aibă acţiune anticanceroasă trebuie să îndeplinească anumite condiţii:

1. să formeze cu AND-ul tumoral complecşi cu geometrie plan-pătrată, de preferinşă izomeri ***cis*** cu legături puternic predominant covalente;
2. doi dintre liganzi (de regulă Cl^-, Br^-) să fie uşori substituibili pentru a oferi două poziţii libere în sfera de coordinare care să poată fi ocupate de AND-ul tumoral sau de alţi liganzi tumorali;
3. Complexul să fie liposolubil pentru a putea străbate membrana celulară, însuşire asigurată de ceilalţi liganzi (NH_3, aminoacizi, alţi liganzi cu atom donor azot).

S-a constatat experimental că dozele necesare pentru vindecarea unor tumori variază în limite foarte largi, iar acţiunea lor se explică prin efectul distructiv al ţesutului tumoral determinat de inhibiţia sintezei AND-ului.

IX. METODE FIZICE UTILIZATE ÎN STUDIUL STRUCTURII COMPUŞILOR COORDINATIVI AI BIOMETALELOR CU BIOLIGANZI

Determinarea structurii compuşilor coordinativi implică rezolvarea a două aspecte:

- determinarea structurii geometrice, adică determinarea plasării în spaţiu a nucleelor atomilor, a atomului metalic central şi a nucleelor atomilor ce intră în componenţa liganzilor coordinaţi cu atomul central;
- determinarea structurii electronice, adică stabilirea distribuţiei (repartiţiei) densităţii electronice în compusul coordinativ şi determinarea nivelelor energetice ale electronilor interiori şi de valenţă (în aproximarea pentru un singur electron).

Între aceste două aspecte ale noţiunii *structură* a compusului coordinativ există o legătură strânsă şi un număr de metode fizice (în special spectrale) permit într-un mod oarecare să elucideze ambele aspecte.

Pentru determinarea structurii electronice a unui complex pot fi utilizate metode directe şi indirecte:

- spectroscopia fotoelectronică şi röentgenoelectronică;

- spectroscopia de vibraţie (spectrele IR şi difuzie combinată);
- spectroscopia RMN şi ENDOR (Electron-Nuclear Double Resonance);
- spectroscopia de rezonanţă prin raze γ (efectul Mössbauer).

În cazul compuşilor de coordinaţie formaţi de ioni ai metalelor tranziţionale, pentru determinarea structurii geometrice în afară de metodele menţionate mai pot fi utilizate:

- spectroscopia de absorbţie UV-VIS şi IR apropiat;
- studiul activităţii optice în lumină polarizată (dicroism circular) şi dispersie optică rotatorie;
- determinarea susceptibilităţii magnetice, cu metodele care utilizează acest parametru;
- studiul modificărilor paramagnetice în spectrele RMN;
- studiul soluţiilor sau a compuşilor coordinativi în stare amorfă prin metoda EXAFS (Extended X-ray Absorbtion Fine Structure);
- analiza prin difracţie de raze X a compuşilor coordinativi în stare cristalină;
- rezonanţa paramagnetică electronică RPE;
- determinarea conductibilităţii electrice.

Spectroscopia fotoelectronică şi röentgeno-electronică

Principiile spectroscopiei röentgenoelectronice şi fotoelectronice sunt identice şi relativ simple. Proba studiată se supune acţiunii iradierii cu raze X sau radiaţie strict monocromatică. În acest caz din stratul atomului (cel intern sau de valenţă) este scos un electron care are o energie cinetică ce poate fi uşor măsurată:

$$E_K\left(E_K=\frac{mv^2}{2}\right); h\upsilon + e_{legatura} \longrightarrow e$$

În acest caz energia electronului care se află pe orbitalul atomic sau molecular poate fi calculată uşor:

$$E_{legatura} = h\nu - \frac{mv^2}{2}$$

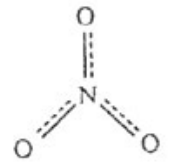
Metodele de spectroscopie röentgenoelectronică şi fotoelectronică sunt puţin utilizate pentru investigarea compuşilor în chimia bioanorganică, din cauza aparaturii complexe şi a dificultăţii metodelor.

Între timp aceste metode s-ar fi putut utiliza pentru investigarea înconjurării apropiate a biometalelor în compuşii de coordinare care conţin atomi N, O, S şi pentru investigarea nivelelor energetice ale biometalelor şi orbitalilor moleculari care coordinează complexul dat.

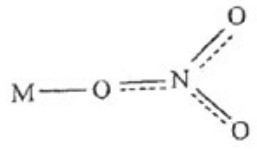
Spectroscopia de vibraţie

Spectroscopia de vibraţie (spectrele IR şi de difuzie combinată) pot da o informaţie foarte preţioasă cu privire la structura primei sfere de coordinare a compuşilor coordinativi şi al modului de coordinare cu diferiţi liganzi. În spectrele de vibraţie pot fi observate frecvenţe care corespund diferitelor moduri de vibraţie (de valenţă, de deformare, de legănare etc.). În unele cazuri se utilizează aproximarea care permite de a evidenţia frecvenţele caracteristice legăturilor chimice date. Astfel în regiunea IR îndepărtat pot fi observate vibraţiile de valenţă a legăturii metal-ligand care sunt deosebit de importante pentru chimia compuşilor coordinativi. În spectrul de vibraţie al compusului coordinativ pot fi observate şi benzile caracteristice frecvenţelor de vibraţie ale liganzilor. La formarea compusului coordinativ ele pot fi scindate în câţiva componenţi din cauza scăderii simetriei ligandului la coordinare, sau pot să se deplaseze şi să-şi modifice intensitatea din cauza modificării deplasării densităţii electronice în molecula ligandului după coordinare.

Drept exemplu poate fi aleasă coordinarea ionului NO_3^- care are o simetrie D_{3h} şi un număr de frecvenţe de vibraţie care corespund acestei simetrii. La coordinare (prin monodentare sau bidentare) simetria ionului NO_3^- coordinat scade pâna la C_{2v}, şi de aceea numărul benzilor din spectrul de vibraţie al ionului creşte:



ionul NO_3^- liber
simetrie D_{3h}



ionul NO_3^- coordinat
simetrie C_{2v}

Utilizarea spectroscopiei în IR pentru investigarea substanţelor cu activitate biologică este limitată când se lucrează în soluţii apoase pentru că apa, după cum se ştie, absoarbe puternic în domeniul infraroşu.

Totuşi, spectroscopia în IR este utilizată cu succes pentru soluţionarea unor probleme în chimia bioanorganică. Astfel pentru investigarea cu ajutorul spectroscopiei în IR a legării moleculelor de CO_2 din carboanhidrază a fost stabilită apariţia asimetriei în moleculele coordinate de CO_2 şi legarea foarte slabă de metalproteine.

De asemenea, cu ajutorul spectroscopiei diferenţiale în IR a fost investigată coordinarea ionului azidă N_3^- cu ionii metalici (Zn^{2+} şi Co^{2+}) care intră în structura carboanhidrazei. A fost observată că banda intensă de la 2049 cm^{-1} se deplasează la coordinarea cu ionul de Co^{2+} până la 2081 cm^{-1} şi până la 2094 cm^{-1} în cazul ionului Zn^{2+}.

Spectroscopia de absorbție în domeniile UV și vizibil

Spectroscopia de absorbție în regiunea vizibilă și ultravioletă a spectrului radiațiilor electromagnetice se mai numește și *spectroscopie electronică* deoarece absorbția cuantelor de lumină în această regiune este legată de deplasările electronilor. Spectroscopia electronică se utilizează cel mai des pentru investigarea compușilor coordinativi ai metalelor tranziționale.

Din cele patru tipuri de tranziții electronice două sunt mai frecvente și mai ușor observabile:

Tranzițiile d-d, adică tranzițiile electronilor între orbitalii d care sunt localizați predominant pe ionul central al complexului. Dintre aceste tranziții fac parte tranzițiile $t_{2g} \longleftrightarrow e_g$ (orbitalii t_{2g} ai metalului pot fi de nelegătură, cu carater predominant de legătură sau cu caracter predominant de antilegătură).

Deoarece *culoarea* compusului coordinativ este determinată de tranzițiile d-d (cel mai mult) caracterul acestora depinde de natura înconjurării apropiate a atomului central (numărul atomilor vecini și plasarea lor în spațiu). Gruparea care conține atomul central și atomii liganzilor donori legați de acesta se numește ***cromofor***. De exemplu pentru complexul $[Co(H_2O)_6]^{2+}$ cromoforul este $Co^{II}O_6$.

Tranzițiile de transfer de sarcină sunt caracterizate de o energie înaltă și de o intensitate destul de mare. În acest caz electronii pot trece pe orbitalii ionului metalic de pe orbitalii

localizați predominant pe liganzi (orbitalii de legătură σ a_{1g}, e_g, t_{1z} sau orbitalii de legătură π t_{2g} și orbitalii de nelegătură localizați pe liganzi t_{1g}, t_{1u}, t_{2u}).

Electronii pot trece și în sens opus de pe orbitalii ocupați cu electroni ai biocationului pe orbitalii π^* vacanți, localizați pe liganzi.

Determinarea susceptibilității magnetice

Susceptibilitatea mcgnetică a compușilor coordinativi ai metalelor 3d este determinată de prezența electronilor neîmperechiați pe orbitali, de obicei ai generatorului de complex. Ea este proporțională cu mărimea momentului magnetic (pentru un singur electron):

$$\mu = g\sqrt{S(S+1)}$$

unde S este spinul electronului (1/2)

g este factorul giromagnetic (2,000023)

Dacă în ion există câțiva electroni neîmperechiați și între ei există interacțiune de spin atunci momentul magnetic este:

$$\mu_S = g\sqrt{S(S+1)}$$

unde S este numărul cuantic de spin al ionului (sau atomului) care este egal cu numărul electronilor neîmperechiați înmulțit cu 1/2.

Măsurătorile experimentale de susceptibilitate magnetică nu necesită utilizarea unei aparaturi foarte complexe. În chimia bioanorganică această metodă este utilizată mai rar (de exemplu această metodă este utilizată pentru a demonstra că legarea O_2 la hemoglobină transformă Fe^{2+} dintr-un ion paramagnetic într-unul diamagnetic).

De asemenea, au fost determinate momentele magnetice ale Co^{2+} în diferiți derivați ai carboanhidrazei. Momentele magnetice ale compușilor de coordinație octaedrici ai Co^{2+} se află în limitele 4,7 – 5,2 iar pentru cei tetraedrici între 4,1 – 4,9.

Datele prezentate precum și datele rezultate din interpretarea spectrelor elucidează coordinarea tetraedrică a Co^{2+} în carboanhidrază.

Rezonanța paramagnetică electronică (RPE)

Rezonanța paramagnetică electronică, cunoscută și sub numele de rezonanță electronică de spin (RES) este o metodă avantajoasă pentru investigarea compușilor coordinativi ai metalelor tranziționale. În această metodă se utilizează existența diferenței în orientarea spinilor electronici într-un câmp magnetic puternic. Pentru un singur electron există două posibilități de orientare a spinului în câmp magnetic: paralel și antiparalel, cu o anumită diferență de energie ΔE:

$$\Delta E = g\beta H$$

unde g este factorul giromagnetic

β este magnetonul lui Bohr

H este intensitatea câmpului magnetic

Cu ajutorul RPE a fost studiat un număr mare de compuși coordinativi ai cuprului, inclusiv proteinele care conțin cupru și în special Cu^{2+}-carboxipeptidaza, Cu^{2+}-insulină, tirosinază, oxidaze etc. Spectrele obținute indică existența unei structuri foarte complexe a înconjurării grupate în jurul Cu(II) cât și existența câtorva cromofori cu Cu(II) în calitate de atom central care diferă ca structură.

În spectrele RPE a xantoxidazei în structura căreia intră Mo, flavinadeninnucleotida și ferul nehemic sunt trei grupe de benzi: singlet (se referă la FAV-H), cvartet (se referă la Mo) și grupa benzilor cu structură greu descifrabilă ca se referă la fier.

Rezonanța magnetică nucleară (RMN)

Se utilizează în studiul diferitelor nuclee atomice în chimia organică și în chimia compușilor coordinativi având o rezoluție foarte mare. O răspândire foarte mare o are RMN a protonului cu toate că în ultimul timp prin această metodă se studiază și nuclee ca ^{31}P, ^{13}C, ^{23}Na.

La utilizarea RMN în chimia bioanorganică o importanță mare o are determinarea influenței diferitelor particule și în primul rând a centrilor paramagnetici asupra timpilor de relaxare a

nucleelor excitate. Ionii paramagnetici modifică mult timpul de relaxare a diferitelor nuclee ţi în primul rând a protonilor.

În chimia bioanorganică tehnica este utilizată în cazul ^{23}Na şi ^{43}Ca pentru determinarea stabilităţii compuşilor de coordinaţie corespunzători. Influenţa ionilor paramagnetici asupra timpului de relaxare al protonilor din apă şi din alte substanţe a fost studiată în cazul metaloenzimelor care conţin ioni de Mn^{2+} şi Co^{2+} (carboxipeptidaze, aldolaze, carboanhidrază).

IX.1. Spectroscopia de absorbţie vibraţională (IR) aplicată la stabilirea structurii compuşilor coordinativi

Spectrele de absorbţie în infraroşu (spectre IR) sunt spectre de vibraţie ale moleculelor. Un spectru IR este curba absorbţiei de energie radiantă (din domeniul IR) de către molecula probei în funcţie de lungimea de undă sau de frecvenţa radiaţiei.Abscisa unui spectru IR este gradată cel mai des în frecvenţe, exprimate ca numere de undă. Relaţia de transformare a lungimii de undă în număr de undă este:

$$\tilde{\nu}\left[cm^{-1}\right]=\frac{10000}{\lambda[nm]}$$

Exprimat în numere de undă, domeniul IR uzual se întinde între 400 şi 4000 cm^{-1}.

Pe ordonata spectrului IR este notată de obicei transmisia procentuală (T%) sau absorbţia procentuală (A%):

$$T\%=\frac{I}{I_0}\cdot 100$$

$$A\%=\frac{I_0-I}{I_0}\cdot 100$$

unde I_0 este intensitatea fluxului luminos iniţial;

I este intensitatea fluxului luminos remanent (după parcurgerea probei)

Energia de vibraţie este unei legături este dată de relaţia:

$$E_{vibratie}=h\nu\left(v+\frac{1}{2}\right)-\frac{h^2\nu^2}{4D}\left(v+\frac{1}{2}\right)$$

unde h=constanta lui Plank ($6{,}62\cdot10^{-27}$ erg·s)

v=frecvenţa proprie de vibraţie a legăturii

D=energia de disociere a legăturii

v=numărul cuantic de vibraţie

Din accastă relaţie rezultă că sistemul în vibraţie nu poate adopta decât anumite energii, cuantificate. Molecula iradiată cu radiaţii IR absoarbe din acestea numai cuantele care au energia corespunzătoare exact diferenţelor de energie între două nivele vibraţionale cuantificate (E_1, E_2, E_3). Prin absorbţia de energie legătura îşi creşte nivelul energetic vibraţional (îşi intensifică

vibrația). Rezultă deci că, din radiația IR moleculele probei vor absorbii energii numai la anumite lungimi de undă (λ_1, λ_2...corespunzătoare energiilor E_1, E_2...), dând naștere în spectrul IR unor ***maxime de absorbție.*** La lungimile de undă la care nu se absoarbe energie, înregistratorul spectrometrului va înscrie ***linia de zero*** a spectrului (sau o linie foarte apropiată de aceasta). Maximele de absorbție IR se manifestă în spectru ca ***benzi*** (și nu ca linii) deoarece orice modificare energetică vibrațională este însoțită de modificări energetice rotaționale.

Din cele de mai sus rezultă că fiecare maxim spectral este asociat unei vibrații a unei anumite legături din molecula probei.

O legătură chimică dintr-o moleculă poate avea două tipuri de mișcări de vibrație:

- *vibrație de întindere* ν, numită și *vibrație de valență* deoarece are loc de-a lungul legăturii (valentei);
- *vibrație de deformare* δ prin care se deformează unghiul valențelor.

În general, energia necesară pentru modificarea amplitudinii unei vibrații de deformare este mai mică decât cea necesară pentru modificarea amplitudinii unei vibrații de întindere. Ca urmare, benzile spectrale corespunzătoare *deformației* unei legături vor fi situate în spectrul IR la numere de undă mai mici decât cele corespunzătoare *întinderii* acelorași legături (numerele de undă sunt proporționale cu energiile).

Frecvențe caracteristice de grup

S-a observat că unele grupe de atomi, cel mai adesea grupe funcționale din chimia organică, prezintă în IR ***benzi de absorbție caracteristice,*** de regulă intense, situate la frecvențe bine determinate, numite ***frecvențe caracteristice de grup.*** Întrucât practic nici o grupă funcțională nu este centrosimetrică, toate aceste grupe dau benzi spectrale în IR.

Deplasările acestor frecvențe de grup sunt utilizate în studiul structurii compușilor organici și a compușilor de coordinație (fenomenul este oarecum asemănător cu diferențele de deplasare chimică ale protonilor de același tip în spectroscopia RMN).

Frecvențele de grup sunt specifice deoarece grupele funcționale prezintă, de regulă, fie:

- o legătură între doi atomi cu mase foarte diferite între ei, fie,
- o legătură mult mai puternică decât cele uzuale (grupele funcționale includ de regulă legături duble sau triple).

Ținând seama de cele de mai sus rezultă că cele mai multe grupe funcționale pot fi identificate prin frecvențele lor caracteristice în IR. ***Coordinarea unui ligand la un ion metalic central se poate determina prin modificarea frecvențelor caracteristice de grup ale liganzilor sau prin apariția în spectrul IR***

a unor benzi caracteristice frecvenţelor de vibraţie ale legăturilor M – L.

În afară de aceasta trebuie amintit că spectroscopia IR se mai utilizează şi drept criteriu de identificare, şi puritate a substanţelor organice precum şi pentru analiza cantitativă (dozări, cinetică etc.).

IX.2. Spectroscopia de absorbţie electronică (în ultraviolet şi vizibil) aplicată în stabilirea structurii compuşilor coordinativi

Spectrele în ultraviolet (UV) şi vizibil (VIZ) sunt spectre electronice ale moleculelor. Ambele tipuri de spectre, între care nu există nici o diferenţă principală, sunt asociate cu tranziţiile electronice care au loc la trecerea moleculelor sau ionilor metalici din stare fundamentală în stare excitată electronic.

Pe abscisa unui spectru electronic se notează fie lungimea de undă (în nm) fie frecvenţa (în cm^{-1}), iar pe ordonata spectrului se redă transmitanţa (T%), extincţia (E, numită şi absorbanţă sau densitate optică), coeficientul molar de extincţie (ε, numit şi absorbtivitate molară) sau logaritmul acestuia, definite prin următoarele relaţii:

$$T\% = \frac{I}{I_0} \cdot 100$$

$$A\% = \frac{I_0 - I}{I_0} \cdot 100$$

$$E = \lg \frac{I_0}{I}$$

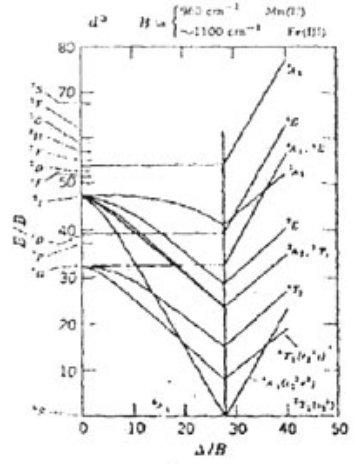
$$\varepsilon\left[1000 cm^2 \cdot mol^{-1}\right] = \frac{E}{l \cdot c}$$

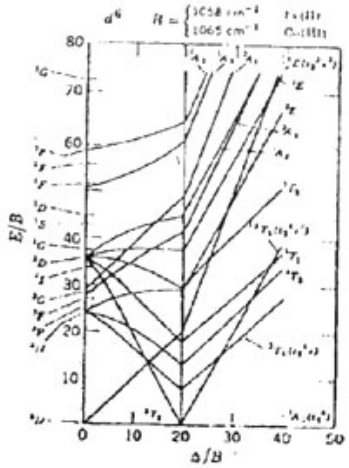
În relaţiile de mai sus I_0 este intensitatea fluxului luminos remanent (după parcurgerea cuvei cu probă); l este grosimea cuvei (în cm) iar c este concentraţia soluţiei de analizat (în moli/l).

Tranziţiile electronice şi corespondenţa acestora cu benzile spectrale UV-VIS

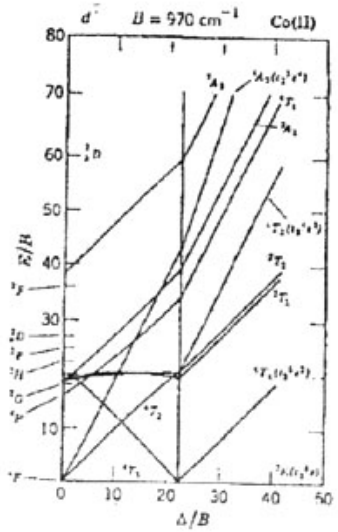
În funcţie de geometria adoptată de ionul metalic central, în spectrul electronic al unei combinaţii complexe apar benzi de absorbţie datorate tranziţiilor d-d (excitarea electronilor pe nivele d ale ionului metalic central).

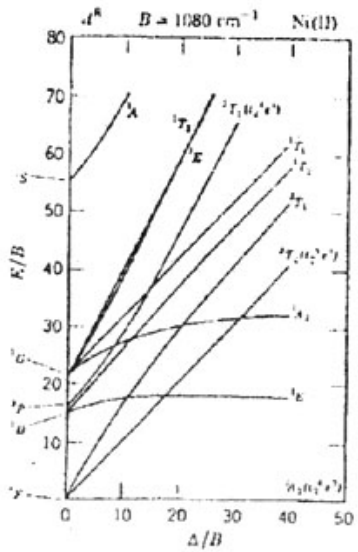
Cei mai simetrici compuşi coordinativi sunt complecşii cu coordinare octaedrică şi tetraedrică. Pentru astfel de compuşi Tanabe şi Sugano au trasat nişte diagrame energetice. Ele sunt prezentate pentru ionii biometalici [de structură $d^5(Mn^{2+}, Fe^{3+})$, $d^6(Fe^{2+})$, $d^7(Co^{2+})$, $d^8(Ni^{2+})$ în figura de mai jos:





În diagramele Tanabc-Sugano pe abscisă se indică valoarea Δ_0 (separarea energetică între orbitalii t_{2g} și este$_g$) iar pe ordonată energia nivelului respectiv (E).





Pentru a obține diagrame universale adică pentru orice ioni cu configurații electronice date, indiferent de sarcina lor și de numărul cuantic principal, valorile Δ_0 și E se împart cu parametrul de repulsie între electroni B (parametrul Racach). Valorile acestui parametru pentru ionii în stare gazoasă ai biometalelor sunt prezentate în diagramele corespunzătoare. În compușii coordinativi orbitalii d sunt delocalizați și densitatea electronică se deplasează parțial pe ligand. De aceea în compușii coordinativi repulsia între electroni scade și parametrul $B_{complex}$ este mai mic decât $B_{ion\ liber}$. Acest fenomen poartă denumirea de *efect nefelauxetic* iar valoarea lui este caracterizată prin raportul:

$$\beta = B_{complex} / B_{ion\ liber},\ \beta<1$$

Cu cât este mai mică valoarea β cu atât mai pronunțată este natura covalentă a complexului dat.

Numărul nivelelor energetice posibile în compusul coordinativ prezentate în diagramele Tanabe-Sugano este minim deoarece în cazul simetriei cubice (O_h și T_d) nivelul d suferă scindarea în două subnivele (t_{2g} și este$_g$ sau t_2 și e). În cazul unei simetrii mai scăzute numărul nivelelor energetice crește, deci după numărul nivelelor și caracterul lor pot fi trase unele concluzii cu privire la simetria primei sfere de coordinație în complex.

Benzile de absorbție datorate tranzițiilor d-d prezintă intensitate mică pentru că aceste tranziții sunt interzise de regulile de selecție ale mecanicii cuantice. Dacă aceste reguli s-ar aplica cu

stricteţe nu ar trebui să observăm spectrul datorat câmpului de liganzi şi nici culoarea ionilor metalelor tranziţionale.Aceste benzi se observă în spectru datorită anumitor procese care fac ca o tranziţie d-d interzisă să devină permisă (cuplarea vibronică şi efectul Jahn-Teller).

Interpretarea tranziţiilor electronice în spectrele combinaţiilor complexe ale ionilor Co^{2+}, Ni^{2+} şi Cu^{2+}.

1. Configuraţia electronică $d^7(Co^{2+})$

Pe baza diagramei Tanabe-Sugano stabilită pentru un ion cu configuraţie d^7 aflat într-un câmp al liganzilor de simetrie ***octaedrică***, se prevăd următoarele tranziţii permise de spin:

$$^4T_{1g} \rightarrow {}^4T_{2g}(F) \qquad \nu_1$$

$$^4T_{1g} \rightarrow {}^4A_{2g} \qquad \nu_2$$

$$^4T_{1g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P) \qquad \nu_3$$

Banda atribuită tranziţiei ν_1 apare în domeniul IR apropiat (8000-10000 cm^{-1}) iar benzile ν_2 şi ν_3 în vizibil. Banda atribuită tranziţiei $^4T_{1g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P)$, care apare la ~ 20000 cm^{-1} este cea mai intensă, iar cea atribuită tranziţiei $^4T_{1g} \rightarrow {}^4A_{2g}$ (tranziţie de doi electroni) este cea mai slabă. Poziţia acesteia este nesigură şi de multe ori nu poate fi observată în spectru din cauza benzii intense ν_3, apropiată ca poziţie. În domeniul vizibil pot să apară şi benzi atribuite tranziţiilor d-d interzise de spin (la stările de dublet

derivate din termenii ^2G şi ^{2}Horticultură ai ionului liber); din această cauză banda ν_3 are un aspect asimetric. De asemenea în cazul apariţiei unei distorsiuni de la simetria octaedrică regulată banda atribuită tranziţiei ν_3 poate fi scindată în două componente.

În cazul unei înconjurări ***tetraedrice*** a ionului de Co^{2+} în spectrul electronic pot să apară trei benzi atribuite tranziţiilor:

$$^4A_2 \rightarrow {}^4T_2(F) \qquad \nu_1$$

$$^4A_2 \rightarrow {}^4T_1(F) \qquad \nu_2$$

$$^4A_2 \rightarrow {}^4T_1(P) \qquad \nu_3$$

De obicei în spectrele electronice ale compuşilor coordinativi tetraedrici ai Co^{2+} apare o bandă intensă atribuită tranziţiei $^4A_2 \rightarrow {}^4T_1(P)$ la aproximativ 15000-19000 cm^{-1} şi eventual banda atribuită tranziţiei $^4A_2 \rightarrow {}^4T_1(F)$ la o frecvenţă mai mică. În unele cazuri aceste benzi pot avea un aspect asimetric ceea ce sugerează distorsiunea de la simetria tetraedrică regulată.

2. Configuraţia electronică $d^8(Ni^{2+})$

Termenul fundamental al configuraţiei d^8 este ^3F, iar următorul în ordinea creşterii energiei este ^3P.

Sub influenţa câmpului ***octaedric*** al liganzilor, termenii de multiplicitate maximă devin:

$$^3F \rightarrow {}^3A_{2g} + {}^3T_{1g} + {}^3T_{2g}$$

$$^3P \rightarrow {}^3T_{1g}$$

Diagrama Tanabe-Sugano pentru un ion cu configuraţie d^8 aflat în câmp de simetrie octaedrică prevede următoarele tranziţii permise:

$^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{2g}(F)$ ν_1

$^3A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}(F)$ ν_2

$^3A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P)$ ν_3

Prima tranziţie apare, în general, în domeniul 7000-10000 cm^{-1}, cea de-a doua în domeniul 11000-20000 cm^{-1} iar ultima la 19000-27000 cm^{-1}. În unele cazuri pot fi observate şi tranziţii interzise de spin la stările singlet ^1E_g şi $^1T_{2g}$. Devierile de la simetria octaedrică regulată afectează în mod diferit tranziţiile. Cea mai afectată este tranziţia ν_1 care apare scindată în două componente ca rezultat al tranziţiilor la termenii ce rezultă din $^3T_{2g}$, şi anume $^3B_{2g}$ şi ^3E_g.

În spectrele electronice ale complecşilor ***tetraedrici*** ai Ni^{2+} de obicei se observă apariţia a doua dintre cele trei benzi posibile:

$^3T_1(F) \rightarrow {}^3T_1(P)$ 18000-22000 cm^{-1}

$^3T_1(F) \rightarrow {}^3A_2$ 10000-12000 cm^{-1}

În cazul unei distorsiuni de la simetria tetraedrică regulată banda atribuită tranziţiei $^3T_1(F) \rightarrow {}^3T_1(P)$ este largă şi aplatizată.

În multe combinaţii complexe ionul biologic active Ni^{2+} adoptă o geometrie ***plan-pătrată***. În spectrele complecşilor plan-pătraţi se observă, de obicei, apariţia a două benzi de absorbţie:

$^1A_{1g} \rightarrow {}^1A_{2g}$ 14000-16000 cm^{-1}

$^1A_{1g} \rightarrow {}^1B_{1g}$ 19000-23000 cm^{-1}

Acest tip de geometrie este confirmat şi de măsurătorile de susceptibilitate magnetică (complecşii plan-pătraţi ai Ni^{2+} sunt diamagnetici).

Configuraţia electronică d^9 (Cu^{2+})

În spectrele de absorbţie ale compuşilor coordinativi ai Cu^{2+} cu simetrie înaltă (O_h sau T_d) trebuie să se observe o singură bandă ($^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$ ***în octaedru*** şi respectiv $^2T \rightarrow {}^2E$ ***în tetraedru***) la aproximativ 500-650 nm. În realitate în spectrele de coordinaţie ai cuprului cu proteinele există câteva benzi sau o bandă foarte largă. Acest fapt poate fi explicat prin aceea că coordinarea atomilor donori în jurul atomului de cupru este pătratică sau atomii donori se plasează în vârful unui tetredru deformat. În cazul unuei coordinări ***plan-pătratice*** este posibil să se observe una sau mai multe din următoarele benzi: $^2E_g \rightarrow {}^2B_{1g}$, $^2E_g \rightarrow {}^2E_{2g}$, $^2E_g \rightarrow {}^2A_{1g}$.

Natura benzilor de absorbţie în spectrele compuşilor de coordinaţie *albaştri* ai Cu(II) cu metalproteine nu este clarificată până în prezent deoarece este necesar de explicat intensitatea mare a

benzilor spectrale ($\varepsilon = 10^3$). Au fost propuse două moduri de explicare a naturii acestor benzi:

- tranziția este de tip d-d dar intensitatea este ridicată datorită simetriei scăzute a înconjurării Cu(II) și datorită suprapunerii parțiale a nivelelor 3d, 4s, 4p;
- are loc un transfer de sarcină de tip L → Cu^{2+} (de tip π sau σ) de pe proteină pe ionul de cupru.

IX.3. Determinarea conductibilității molare metodă de caracterizare a biocomplecșilor

Conductometria cuprinde metodele electroanalitice care se bazează pe determinarea conductibilității soluțiilor. Conductibilitatea electrică a corpurilor este legată de deplasarea sarcinilor electrice sub influența unui gradient de potențial.

În cazul conductorilor metalici, se deplasează electronii, iar în cazul soluțiilor de electroliți sau în topituri, se deplasează ionii.

Dacă soluția este foarte diluată, interacțiunile ionice sunt extrem de reduse. Fiecare ion se deplasează independent de ceilalți, iar conductivitatea totală rezultă din însumarea contribuțiilor fiecărui tip de ion prezent în soluție.

Fiecare termen al sumei reprezintă produsul între concentrația c_i, sarcina z_i și conductivitatea ionică λ_i a unui ion. Legea migrării independente are următoarea expresie:

$$\lambda = \sum_i c_i |z_i| \lambda_i$$

Proprietățile conductoare pot fi exprimate prin două mărimi: conductanța L și conductivitatea (conductibilitatea specifică) λ. Conductivitatea reprezintă inversul rezistivității conductorului și se măsoară în $\omega^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Capacitatea unei substanțe ionice de a transporta curentul electric se exprimă prin conductivitatea echivalentă (Λ) sau prin conductivitatea molară (Λ_M):

$$\Lambda = \frac{1000 \cdot \lambda}{c}$$

$$\Lambda_M = \frac{1000 \cdot \lambda}{c_M}$$

unde c este concentrația normală a soluției

c_M este concentrația molară a soluției

Determinarea conductivității molare este o metodă eficientă utilizată în caracterizarea compușilor coordinativi. Cu ajutorul ei se poate stabili natura complexului.

De exemplu în cazul unei combinații complexe de tipul ML_2Cl_2 în funcție de valoarea calculată a conductibilității molare se poate stabili prima sferă de coordinare a ionului metalic astfel:

1. ***$[ML_2]Cl_2$ electrolit 1:2***
2. ***$[ML_2Cl]Cl$ electrolit 1:1***
3. ***$[ML_2Cl_2]$ neelectrolit***

IX.4. Spectrometria de rezonanţă megnetică nucleară (^{1}H-RMN şi ^{13}C-RMN) aplicată în stabilirea structurii biocompuşilor de coordinaţie

Dintre metodele fizice, rezonanţa magnetică nucleară (RMN) este aceea care oferă cea mai bogată şi mai completă informaţie structurală asupra compuşilor organici. Spre deosebire de spectroscopia IR, în RMN practic toate semnalele sunt interpretabile relativ uşor, iar spre deosebire de spectroscopia electronică metoda RMN oferă mult mai multe informaţii.

Dezvoltată prin analogie cu rezonanţa electronică de spin, rezonanşa magnetică nucleară de înaltă rezoluţie, aplicată iniţial pentru studiul protonilor şi extinsă ulterior pentru o serie de alţi nuclizi (^{13}C, ^{19}F, ^{31}P, ^{17}O) a devenit în prezent cea mai importantă metodă de studiu a compuşilor organici şi de coordinaţie.

Magnetismul nuclear

Întocmai ca şi electronul, protonul efectuează o mişcare rapidă de rotaţie în jurul axei sale, mişcare numită *spin nuclear.* Mişcării de rotaţie a protonului (spin nuclear) I se asociază un moment magnetic de spin. În cazul unor nuclee compuse din mai mulţi protoni şi neutroni, are loc o compensare a spinilor particulelor elementare, spre exterior manifestându-se un moment magnetic rezultant.

Magnetismul nuclear este caracterizat prin *numărul cuantic de spin nuclear I,* care, spre deosebire de cel al electronului, poate avea valori diferite, în conformitate cu următoarele reguli:

- nuclizii conţinând un număr par de protoni şi un număr par de neutroni au I = 0;
- nuclizii conţinând un număr impar fie de protoni, fie de neutroni au ca valori I numere fracţionare (1/2; 3/2; 5/2);
- nuclizii în care atât protonii cât şi electronii sunt în număr impar au valori I întregi (1, 2, 3).

Momentul magnetic foarte mic al nucleelor se pune în evidenţă prin interacţiunea sa cu un câmp magnetic exterior. În general momentul magnetic al nucleelor poate adopta (2I+1) orientări. Pentru nucleele cel mai des întâlnite ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F, ^{31}P, I=1/2 astfel încât rezultă numai două orientări posibile:

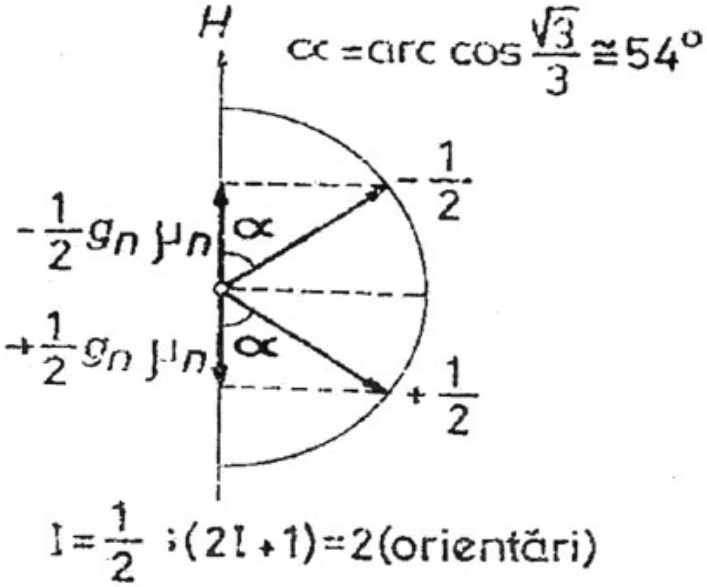
- una aproximativ în sensul câmpului (făcând cu acesta un unghi de 54°), *orientare paralelă;*
- alta aproximativ opusă sensului câmpului (făcând cu acesta un unghi de 126°), *orientare antiparalelă.*

Între cele două orientări ale nuclizilor care au I=1/2 apare o diferenţă de energie ΔE dată de relaţia:

$$\Delta E = \mu_m \cdot g_n \cdot H$$

unde μ_m este magnetonul nuclear;

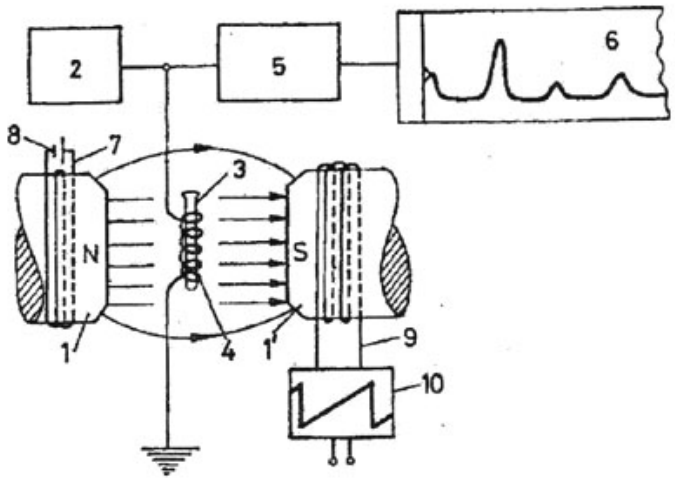
g_n este factorul giromagnetic nuclear;



Principiul aparaturii

Realizarea experienţelor de RMN se poate face fie în aparate cu balciaj de câmp, lucrând la frecvenţă fixă, fie în aparate cu baleiaj de frecvenţă, la câmp magnetic fix.

Schiţa de principiu mult simplificată a unui spectrometru RMN cu baleiaj de câmp este prezentată în figura următoare. Proba se introduce în fiola 3 plasată în câmpul magnetic omogen dat de electromagnetul 1.1' (sau de un magnet permanent). În scopul uniformizării poziţiti tuturor protonilor în raport cu câmpul magnetic, proba se roteşte în jurul axei verticale cu circa 20-30 rotaţii/secundă.



Schiţa de principiu a unui spectrometru RMN: 1,1' — polii electromagnetului; 2 — generatorul de radiofrecvenţă; 3— tubul cu probă; 4 — bobină de radiofrecvenţă; 5 — detector-amplificator; 6 — înregistrator de semnal; 7 — bobină generatoare a cîmpului de bază; 8 — sursă de curent continuu stabilizat; 9 — bobină de variaţie a cîmpului magnetic; 10 — generator de curent tip „dintre de fierăstrău".

Generatorul 2 produce un câmp de radiofrecvenţă (cu frecvenţa constantă ν) din care o parte trece prin bobina 4 iradiind proba iar cealaltă parte se transmite detectorului amplificator 5. Generatorul 10 produce un curent continuu de intensitate crescătoare liniar în timp (curent tip *dinte de fierăstrău*). Trecând prin bobina 9 acest curent face să crească intensitatea H a câmpului. La atingerea valorii critice, corespunzătoare rezonanţei, se produce o inversare a spinilor nucleari, bobina 4 absorbind un surplus de energie. În acest moment la amplificator ajunge o energie

micșorată, luând astfel naștere un *semnal* care după o amplificare corespunzătoare este înregistrat de înregistratorul 6.

Împingând rezoluția spre o limită extremă, prin realizarea unui câmp magnetic intens, de o perfectă omogenitate în spațiu și constanță în timp, precum și prin realizarea unei frecvențe perfect stabile se pot sesiza diferențele între valorile g_n ale diferiților nuclizi.

Astfel se pot obține pentru același nuclid o serie de semnale apropiate rezultând un spectru RMN extrem de bogat în informații asupra structurii compusului investigat.

În cazul spectrometriei RMN protonice se utilizează drept solvenți compuși ce nu conțin protoni cum ar fi: CCl_4, CS_2, $CDCl_3$, $(D_3C)_2C$, C_6D_6 etc. În cazuri speciale se pot utiliza și solvenți protici, cu condiția de a se interpreta doar regiunile din spectru în care solventul nu dă absorbții directe sau benzi satelit.

Pentru spectroscopia ^{13}C-RMN se folosesc solvenți anorganici (H_2O, D_2O etc.) sau organici ce conțin doar 1-2 tipuri de atomi de carbon diferiți, de obicei tot compuși deuterați ($CDCl_3$, CD_2Cl_2, $(D_3C)_2SO$).

IX.5. Rezonanța paramagnetică electronică

Rezonanța paramagnetică electronică, cunoscută și sub numele de rezonanță electronică de spin (RES) este o metodă

avantajoasă pentru investigarea compușilor coordinativi ai metalelor tranziționale. În această metodă se utilizează existența diferenței în orientarea spinilor electronici într-un câmp magnetic puternic. Pentru un singur electron există două posibilități de orientare a spinului în câmp magnetic: paralel și antiparalel, cu o anumită diferență de energie ΔE:

$$\Delta E = g\beta H$$

unde g este factorul giromagnetic

β este magnetonul lui Bohr

H este intensitatea câmpului magnetic

La un echilibru termic completarea cu electroni a norului interior este mai mare decât a celui exterior. Dacă sistemul este supus unei iradieri cu frecvența ν pentru menținerea condiției de rezonanță $h\nu = g\beta H$ se creează condiții optime pentru tranziția electronului de pe nivelul intern pe cel extern cu absorbție de energie. Condițiile rezonanței și deci a absorbției maxime de energie pot fi obținute la modificarea intensității câmpului cu frecvență dată. Același efect poate fi obținut și la modificarea frecvenței radiației absorbite.

Pentru electronul liber g = 2,00 iar pentru electronii din compușii coordinativi ce conțin ioni paramagnetici pot fi observate următoarele fenomene:

1. Valoarea g ≠ 2,00 din cauza contribuției momentului orbital; valoarea lui poate fi o măsură a gradului de covalență a legăturii;
2. Valoarea lui g depinde de direcția acțiunii câmpului magnetic și pentru cristale se observă fenomenul anizotropiei magnetice. În cazul cel mai simplu pot fi distinse două componente ale lui g: g_{II} și $g_{\perp}$ (g_{II} este componenta paralelă iar $g_{\perp}$ este componenta perpendiculară). Relația dintre ele este următoarea:

$$g_{cp}^2 = 1/3 \cdot (g_{II}^2 + 2\, g_{\perp}^2)$$

3. Câmpul magnetic slab al ionului duce la apariția structurii superfine a spectrelor și depinde de mărimea momentului magnetic al nucleului (J). Numărul componenților spectrului superfin este egal cu 2J+1.
4. Între electronii neîmperechiați și rețeaua cristalină se stabilește un echilibru termic.

Mai avantajoase sunt spectrele RPE pentru compușii care conțin Cu^{II}, Mo^{V} iar la temperaturi scăzute cele pentru compușii cu Mn, Fe și Co.

Cu ajutorul RPE a fost studiat un număr mare de compuși coordinativi ai cuprului, inclusiv proteinele care conțin cupru și în special Cu^{2+}-carboxipeptidaza, Cu^{2+}-insulină, tirosinază, oxidaze etc.

Ioni	*J*	*Nr. componenți în spectrul superfin*	*Condițiile existenței spectreleor RPE*
$^{55}Mn^{2+}$	5/2	6	Simetrie înaltă a înconjurării sau temp. scăzută
$^{58}Fe^{2+}$ $^{57}Fe^{2+}$	5/2	6	Temperatură scăzută
$^{55}Co^{2+}$	7/2	8	Temperatură scăzută
Ni^{2+}	7/2	8	Temperatură foarte scăzută
Cu^{2+}	3/2	4	Temperatura camerei
$^{95}Mn^{V}$ $^{97}Mo^{V}$	5/2	6	Temperatura camerei

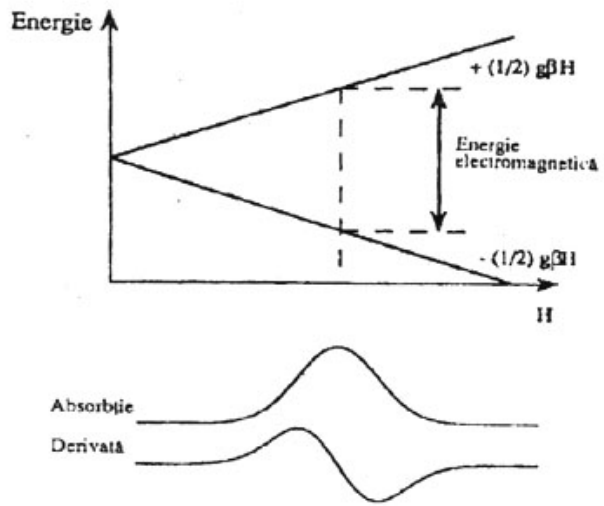
Spectrele obținute indică existența unei structuri foarte complexe a înconjurării grupate în jurul Cu(II) cât și existența câtorva cromofori cu Cu(II) în calitate de atom central care diferă ca structură.

În spectrele RPE a xantoxidazei în structura căreia intră Mo, flavinadeninnucleotida și ferul nehemic sunt trei grupe de benzi: singlet (se referă la FAV-H), cvartet (se referă la Mo) și grupa benzilor cu structură greu descifrabilă ca se referă la fier.

Principiul de bază al metodei RPE este următorul: se trimite asupra sistemului o undă electromagnetică de energie definită $h\nu_0$ și se modifică intensitatea câmpului H până ce diferența de energie $g\beta H$ între două nivele succesive va fi $h\nu_0 = g\beta H$.

Atunci avem rezonanță și unda electromagnetică este absorbită de sistem pentru a trece de la starea I-1/2> la starea

I+1/2>. Pentru detectarea acestui fenomen se măsoară absorbția undei electromagnetice în funcție de câmpul H. La rezonanță absorbția trece printr-un maxim. De fapt se trasează derivata absorbției în funcție de intensitatea câmpului; această derivată se anulează la rezonanță.



Rezonanța unui sistem cu S = 1/2

X. APLICAȚII ALE CHIMIEI BIOANORGANICE

În prezent s-au conturat câteva domenii de utilizare practică a realizărilor teoretice din chimia bioanorganică cele mai frecvente fiind în medicină, agricultură şi protecția mediului.

X.1. Aplicații ale chimiei bioanorganice în medicină

Utilizarea chimiei bioanorganice în medicină este bazată în primul rând pe aceea că, concentrațiile (şi cantitățile) de biometale în diferite țesuturi ale organismelor vii care funcționează normal, se mențin la un nivel strict determinat, datorită controlului riguros al sistemului alcătuit din proteine şi hormoni.

Modificarea concentrației biometalelor în organism are loc din cauza dereglării sistemelor care controlează concentrația lor. De exemplu, concentrația în cupru se mărește de câteva ori în timpul funcționării defectuoase a ficatului (hepatită, ciroză) şi în timpul manifestării altor boli cum ar fi nefrita, leucemia, etc. De aceea, modificarea concentrației ionilor de cupru poate fi utilizată în stabilirea diagnosticului şi în urmărirea tratamentului acestor boli.

Multe preparate medicamentoase conțin liganzi care leagă selectiv ionii metalici toxici sau excesul dăunător în biometale. Substanțele de acest tip sunt denumite substanțe dezintoxicate şi trebuie să îndeplinească cel puțin trei condiții:

- dezintoxicanții și compușii lor de coordinație cu ionii metalici să fie netoxici;

- compusul de coordinație al ionului metalic cu dezintoxicantul trebuie să fie mai stabil decât compusul de coordinare al ionului metalic cu gruparea corespunzătoare apoproteinei;

- compusul de coordinare trebuie să fie liposolubil, adică să treacă ușor spre exterior prin membranele celulare.

Unul dintre cei mai cunoscuți dezintoxicanți este ionul etilendiaminotetraacetat care formează compuși de coordinare cu ionii de plumb și vanadiu din organism; această substanță se utilizează sub forma sării de Na^+ sau Ca^{2+} pentru a evita legarea și eliminarea calciului din organism.

De asemenea, în ultimii ani, au apărut lucrări științifice cu privire la substanțele chimice cu o potențială activitate cancerigenă și anticancerigenă. Investigarea compușilor coordinativi ai metalelor tranziționale *3d* a arătat că numai unele dintre ele pot avea acțiune efectivă în tratarea cancerului.

Dintre clorurile simple o oarecare activitate o prezintă $ZnCl_2$. Capacitatea de a inhiba tumorile canceroase o au sărurile unor acizi carboxilici cum este malonatul de mangan, unele preparate cu Cu^{2+} sau Co^{2+}. Anumite forme de cancer sunt sensibile la compuși de coordinație ai Co^{2+} cu baze Schiff.

De asemenea, activitate anticancerigenă prezintă și izomerii cis de Pt(II), izomerii trans fiind inactivi din acest punct de vedere.

X.2. Aplicațiile chimiei bioanorganice în agricultură

Un alt domeniu de utilizare practică a rezultatelor obținute în chimia bioanorganică este agricultura și în primul rând cultura plantelor.

Utilizarea reactivilor din categoria liganzilor polidentați a oferit o posibilitate reală pentru transferul fierului din insolubil sub forma unui compus de coordinație al Fe(III) stabil și solubil, care poate trece ușor prin membrana celulară (pentru prima dată în acest scop a fost utilizat EDTA–ul).

La alegerea agenților de complexare este necesar să se țină cont nu numai de stabilitatea compușilor coordinativi ai Fe(III) dar și de alți factori cum ar fi stabilitatea față de microorganisme, toxicitate mică pentru plante, etc.

Pentru eliminarea deficienței de zinc din plante se utilizează chelați pe bază de zinc.

X.3. Aplicații ale chimiei bioanorganice în protecția mediului

Metodele stabilite de chimia bioanorganică pot fi utilizate cu succes la rezolvarea unor probleme foarte importante cum ar fi:

- prevenirea poluării mediului cu elemente chimice şi cu combinaţiile lor toxice;

- stabilirea metodelor de înlăturare a poluanţilor de acest tip;

Între metodele cu o toxicitate ridicată şi o răspindire destul de mare putem enumera : *Hg, Pb* şi *Cd.*

- *Hg* – ajunge în mediul înconjurător de la întreprinderile electrochimice (electrozi de Hg) şi electrotehnice;

- *Pb* – din gazele de eşapament

- *Cd* – industria siderurgică

Metalele platinice pot apărea în mediu din cauza utilizării unor catalizatori în industria petrolieră iar ruteniul radioactiv se poate forma în timpul descompunereii unor topituri de combustibili nucleari.

BIBLIOGRAFIE GENERALĂ

1. Albu C.D., Brezeanu M., *Mică enciclopedie de chimie*, Editura Enciclopedică Română, Bucureşti, 1974.
2. Anghel I., *Lecţii de genetică*, Editura Scaiul, Bucureşti, 1995.
3. Avram M., *Chimie organică vol. I-II*, Editura Academiei, Bucureşti, 1983.
4. Banciu S.A., Ciacoi-Dimitriu D., *Descoperiri epocale în biochimie*, Editura Albatros, Bucureşti, 1990.
5. Brezeanu M., Spacu P., *Chimia combinaţiilor complexe*, Editura Didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1974.
6. Brezeanu M., Cristureanu E., Antoniu A., marinescu D., Andruh M., *Chimia metalelor*, Editura Academiei Române, Bucureşti, 1990.
7. Blondin G., Girerd J.J., meunier B., *Chimie bioinorganique*, Ecole Polytechnique Palaiseaux, 1996.
8. Cowan J.A., *Inorganic biochemistry*, Editura John & Sons, Inc., New-York, 1997.
9. Cotton F.A., Wikinson G., Gaus P.L., *Basic inorganic chemistry*, Editura John & Sons, Inc., New-York, 1995.
10. Huheey J.E., *Inorganic chemistry. Principles of structure and reactivity*, Harper&Row, Publishers, New-York, 1990.

11. Hay R.W., *Bio-Inorganic Chemistry*, Ellis Harwood Limited, New-York, 1987.
12. Jolly W.L., *Modern Inorganic Chemistry*, McGraw-Hellbook Company, New-York, 1987.
13. Kaim W., Schwederski B., *Bioinorganic chemistry: Inorganic Elements în the Chemistry of Life*, john-University Press, oxford, 1995.
14. Marcu Gh., *Chimia compuşilor coordinativi*, Editura Academiei Române, Bucureşti, 1984.
15. Moţoc I., *Structura moleculelor şi activitatea biologică*, Editura facla, Timişoara, 1980.
16. Macovschi E., *The confirmation of the biostructural theory by the high voltage electron microscopy*, editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1981.
17. Negoiu D., *Oxigenul*, Editura Tehnică, Bucureşti, 1996.
18. Nenițescu C.D., *Chimie generală*, Editura Didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1972.
19. Roman L., Bârzu O., *Implicaţii biomedicale ale combinaţiilor complexe*, editura dacia, cluj-Napoca, 1979.
20. Simon Z., *Biochimie cuantică şi interacţiuni specifice*, Editura ştiinţifică şi Enciclopedică, bucureşti, 1973.
21. Străjescu M., Teodor F., *Elemente de chimie bioanorganică*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1979.

22. Străjescu M., Vicol M., Jeleriu S., Mărgineanu F., *Fixarea azotului*, Editura Tehnică, Bucureşti, 1987.
23. Shriver D.F., Atkins P.W., Langford C.H., *Inorganic Chemistry*, Oxford University Press, 1990.
24. Trautwein A.X., *Bioinorganic Chemistry*, Editura John & Sons, Inc., New-York, 1997.
25. Vevera v., *Fiziopatologia şi clinica fierului*, Editura Medicală, Bucureşti, 1978.
26. Zena C., *Magneziul: biologie, clinică, tratament*, Editura Enciclopedică, Bucureşti, 1994.
27. Stryer L., *Biochemistry*, W.H. Freeman&Co., New-York, 1981.
28. Iordan A.R., Palamaru M.N., Cecal Al., *Introducere în chimia compuşilor de coordinaţie*, Editura Tehnopress, Iaşi, 1991.
29. Jerghiuţă S., Ţivlea J., Covrig A., Ilucă D., *Chimia şi viaţa*, Editura Document, Iaşi, 1997.
30. Lippard S.J., Berg J.M., *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, Mill Valley, California, 1994.
31. Rudic V.F., *Aspecte noi ale biotehnologiei moderne*, Ştiinţa chişinău, 1993.
32. Atkins P.W., Beran J.A., *General chemistry (2rd edn.)*, Freeman & Co. New York, 1992.

33. Gillespie R.J., *The VSEPR method revisited*, Chemical Society Reviews, 59, 1992.
34. Huheey J.E., *Inorganic chemistry-principles of structure and reactivity (3rd edn.)* , Herper International, New York, 1983.
35. Jolly W.L., *Modern inorganic chemistry*, McGraw-Hill., Inc., New York, 1991.
36. Pauling L., *The nature of the chemical bond*, Journal of the Chemical Education, 69, 519, 1992.
37. Shriver D.H., Atkins P.W., langford C.H., Inorganic Chemistry, Oxford University Press, 1990.
38. Webster B., *Chemical bonding theory*, Blackwell scientific publications, Oxford, 1990.
39. Mackay K.M., Mackay R.A., *Introduction to modern inorganic chemistry (3rd edn.),* International Text book Company, Lonon, 1981.
40. Roşu T., Negoiu M., *Bazele chimiei anorganice (partea I)*, Editura Ars Docendi, Bucureşti, 1999.
41. Ravikanth M., Chendrasherkar T.K., *Structure and Bonding, nonplanar Porphyrins and their Biological relevance.*, Editors M.J. Clarke, Springer Verlang, Berlin, 1995.
42. Negoiu D., *Oxigenul*, Editura Tehnică, Bucureşti, 1996.